

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG AN DER CERVIX DER HÜNDIN WÄHREND DER INGRAVIDITÄT UND INTRA PARTUM

BETTINA SCHMIDT



INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2006

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2006

© 2006 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Giessen

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

Histologische Untersuchung an der Cervix der Hündin während der Ingravidität und intra partum

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Giessen

eingereicht von

Bettina Schmidt, geb. Feix

Tierärztin aus Flörsheim (Hessen)

Giessen 2006

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

1. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Wehrend

2. Berichterstatterin: Prof. Dr. S. Kölle

Tag der mündlichen Prüfung: 28.6.2006

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literatur	2
2.1	Aufbau und Funktion der Cervix	2
2.1.1	Makroskopische Anatomie	2
2.1.2	Mikroskopische Anatomie	4
2.1.3	Funktion	6
2.2	Abwehrzellen im cervicalen Gewebe	9
2.3	Zyklusabhängige Veränderungen der Cervix beim Hund	12
2.4	Graviditäts- und geburtsbedingte Veränderungen	13
2.5	Hormonelle Regulation des caninen Reproduktionszyklus	14
2.5.1	Einteilung der Zyklusphasen	14
2.5.2	Morphologische und hormonelle Veränderungen während der Zyklusphasen	15
2.6	Hormonabhängige Veränderungen der Cervix	19
2.6.1	Östrogene	19
2.6.2	Progesteron	20
2.6.3	Oxytocin	21
2.6.4	Prostaglandine	21
2.6.5	Relaxin	23
2.7	Klinische Bedeutung der Cervix uteri	24
2.7.1	Angeborene Missbildungen	24
2.7.2	Neoplasien	24
2.7.3	Vaginocervicaler Prolaps	25
2.7.4	Instrumentelle Samenübertragung	25

3	Material und Methoden	27
3.1	Probanden	27
3.1.1	Klinische Untersuchung der Hündinnen	28
3.1.2	Bestimmung des Zyklusstandes	29
3.1.3	Exfoliative Vaginalzytologie	30
3.1.4	Hormonbestimmungen	31
3.1.5	Durchführung der Ovariohysterektomie	33
3.1.6	Durchführung der Sectio caesarea	33
3.1.7	Gewebeentnahme	34
3.2	Bearbeitung der Cervixgewebeproben	34
3.2.1	Probenaufbereitung und Fixierung	34
3.2.2	Paraffineinbettung	34
3.2.3	Herstellung der histologischen Schnitte	35
3.2.4	Färbungen	36
3.2.5	Färbeprotokolle	37
3.3	Auswertung der histologischen Schnitte	41
3.4	Statistische Verfahren	43
4	Ergebnisse	44
4.1	Allgemeine histologische Beschreibung	44
4.2	Morphologie des Epithels	44
4.3	Bindegewebsschicht	50
4.4	Drüsen	57
4.5	Vaskuläre Strukturen	64
4.5.1	Venen	65
4.5.2	Arterien	69

4.6	Eosinophile Granulozyten	74
4.7	Mastzellen	76
5	Diskussion	79
5.1	Diskussion der Methodik	80
5.2	Diskussion der histologischen Ergebnisse	83
5.2.1	Generelle histologische Struktur	83
5.2.2	Morphologische Befunde an der caninen Cervix bei ingraviden Hündinnen	84
5.2.3	Morphologische Befunde an der caninen Cervix bei Hündinnen intra partum	89
5.3	Offene Fragestellungen	91
6	Zusammenfassung	92
7	Summary	95
8	Anhang	98
8.1	Lagerung und Fixierung des Gewebes	98
8.1.1	Neutral gepuffertes Formol nach Lillie	98
8.1.2	Natriumphosphat-Puffer	98
8.2	Herstellung der Gewebeschnitte	99
8.2.1	3-Aminopropyltriethoxy-Silan 2% (APES)	99
8.3	Färbelösungen	99
8.3.1	Hämatoxilin-Eosin-Färbung	99
8.3.2	Toluidin-Blau-Färbung	99
8.3.3	Giemsa-Färbung	100
8.3.4	Resorcin-Fuchsin-Färbung	100
9	Literaturverzeichnis	101

1 Einleitung

Die Bedeutung der Reproduktionsmedizin beim Hund nimmt zu. So wird die Ovariohysterektomie als Therapie von gynäkologischen Störungen immer häufiger abgelehnt und eine individuelle Therapie, die die Zuchtfähigkeit erhält, vom Tierhalter erwartet. Dies erfordert vom Tierarzt eine umfassende Kenntnis der Struktur und der Funktion der Geschlechtsorgane. Viele Mechanismen der Steuerung der physiologischen Reproduktionsleistungen und Ursachen von Dysfunktionen sind bisher jedoch nur im Ansatz bekannt.

Von den Geschlechtsorganen der Hündin ist die Cervix bisher am wenigsten untersucht worden. Nur eine histologische Studie beschäftigte sich mit der Morphologie des Cervixepithels und der cervicalen Muskelschicht in Abhängigkeit von den Zyklusstadien (Roszel, 1992).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher, neben der Beschreibung der histologischen Architektur der Cervix bei ingraviden Hündinnen und Tieren in der Geburt die Beeinflussung der Gewebsarchitektur durch die Steroidhormonkonzentrationen von Östradiol-17 β und Progesteron zu beschreiben. Ein Schwerpunkt liegt in der Darstellung von eosinophilen Granulozyten und Mastzellen im cervicalen Bindegewebe, da diese Zellpopulationen durch vorausgehende Untersuchungen der Arbeitsgruppe in der Cervix der Stute als Bestandteil des cervicalen Bindegewebes nachgewiesen werden konnten (Wehrend und Huchzermeyer, 2005; Huchzermeyer et al., 2005). Bei der Hündin fehlen derartige Studien bisher.

2 Literatur

2.1 Aufbau und Funktion der Cervix

2.1.1 Makroskopische Anatomie

Die Cervix stellt eine anatomische und funktionelle Barriere dar, die entsprechend des Reproduktionszyklus geöffnet oder geschlossen ist.

Der Gebärmutterhalskanal, *Canalis cervicis uteri*, schließt sich an den caudal liegenden äußeren Muttermund, das *Ostium uteri externum*, an, welcher als Gebärmutterzapfen, *Portio vaginalis cervicis*, in die Vagina ragt. Der *Canalis cervicis uteri* endet mit dem inneren Gebärmuttermund, dem *Ostium uteri internum*, im Uterus. Die Auskleidung des *Canalis cervicis uteri* besteht aus einer Schleimhaut, die sich in primäre Falten legt, welche sich wiederum in Sekundär- und Tertiärfalten aufteilen (Liebich, 1993).

Bei der Hündin weist die *Cervix uteri* nur eine geringe Länge auf, so dass das *Ostium uteri externum* und *internum* dicht zusammen liegen, wobei der innere Gebärmuttermund allmählich in den Uterus übergeht. Die Länge der intraabdominal liegenden Cervix des Hundes wird mit 10 mm angegeben (Schummer und Vollmerhaus, 1987) bzw. als dickwandiges und kurzes Organ von 3-10 mm Länge beschrieben (el-Banna und Hafez, 1972).

Endoskopischen Untersuchungen an der *Portio vaginalis cervicis* der Hündin zufolge werden eine glatte, gefurchte und brombeerartige Oberflächengestaltung unterschieden. Die glatte Oberfläche der *Portio vaginalis cervicis* zeichnet sich durch sehr feine strahlenförmig verlaufende Linien aus. Die gefurchte *Portio vaginalis cervicis* durchziehen unregelmäßige Falten, die sich in ihrer weiteren Erscheinungsform brombeerartig anordnen. Diese Oberflächenbeschaffenheit der *Portio vaginalis cervicis* der Hündin ist individuell festgelegt und bleibt während des Zyklus in der Regel unverändert. Nur in Einzelfällen erhält die glatte *Portio vaginalis cervicis* kurzzeitig ein brombeerartiges Aussehen (Lübke, 1997).

Die canine *Portio vaginalis cervicis* geht dorsal in eine Schleimhautfalte über, so dass sie nur ventral frei in die Vagina ragt (Schummer und Vollmerhaus, 1987).

Diese dorsale dreihöckrige Schleimhautfalte besteht aus drei hintereinanderliegenden Schleimhauttuberkeln, die in ihrem Verlauf die sogenannte Paracervix ausbilden und mit ihrem caudalen Schleimhauttuberkel die Pseudocervix formen (Lindsay und Concannon, 1986).

Zusätzliche laterale Einziehungen der Vaginalwand begleiten die Paracervix, die in ihrem caudalen Erscheinungsbild der *Portio vaginalis cervicis* ähnelt und daher als Pseudocervix bezeichnet wird (Kainer und Pineda, 1973).

Das *Ostium uteri externum* mündet in einem nahezu rechten Winkel in die Paracervix, wobei sich diese noch etwas nach cranial fortsetzt und in einem Blindsack endet (Roszel, 1992, Abbildung 2.1).

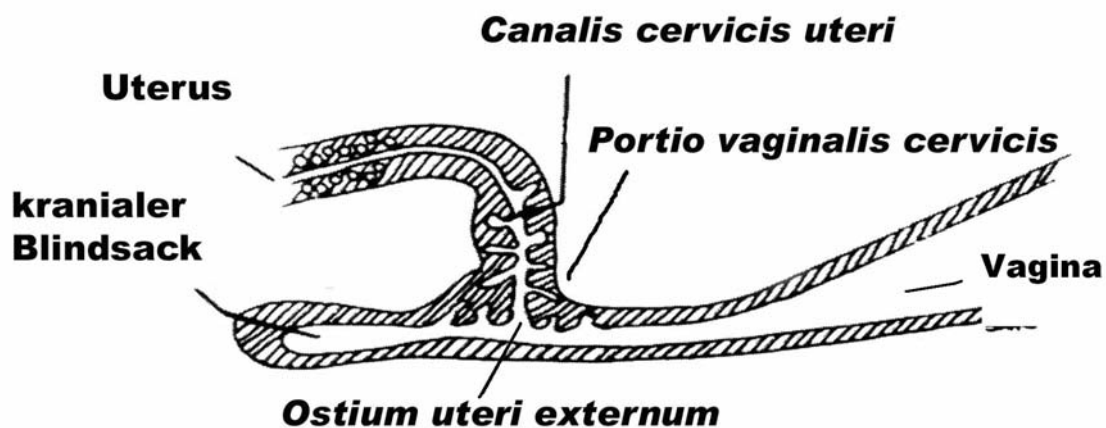


Abb. 2.1 Schematische Darstellung der caninen Cervix (modifiziert nach Roszel, 1992).

Die Gefäßversorgung des cranialen Abschnittes der Vagina, der Cervix und des Uterus übernimmt die *Arteria uterina*, die im Mesometrium verläuft und dabei sich weiter aufteilende Seitenzweige abgibt. Die Venen sind als Begleitgefäße der Arterien ausgebildet. Die nervale Versorgung der *Cervix uteri* wird zusammen mit Uterus und Vagina durch den *Plexus uterovaginalis*, der aus dem *Plexus pelvinus* hervorgeht, gewährleistet. An der Eintrittsstelle zur Cervix liegen die Nervenäste sowie die *Arteria* und *Vena uterina* dicht beieinander (Rüedlinger, 1976).

2.1.2 Mikroskopische Anatomie

Der grundsätzliche Schichtenaufbau der weiblichen Geschlechtsorgane findet sich auch in der Cervix wieder. Somit unterscheidet man das Schleimhautepithel, *Tunica mucosa*, die Bindegewebsschicht, *Lamina propria*, und die Muskelschicht, *Tunica muscularis*. Den serösen Überzug bildet ein einschichtiges Serosaepithel (Liebich, 1993).

Die den *Canalis cervicis uteri* ausgekleidende *Tunica mucosa* legt sich in Primärfalten, die sich in Sekundär- und Tertiärfalten aufteilen. Dieses Schleimhautepithel wird als einschichtig, hochprismatisch beschrieben (Smollich, 1992; Liebich, 1993).

Im Gegensatz hierzu beschreibt Roszel (1992) das Epithel der caninen Cervix als im Metöstrus, Anöstrus und in der Endometriumsregenerationsphase zweischichtig kolumnar-kuboidal und im Proöstrus und Östrus vier- bis sechsschichtig. Bei nicht geschlechtsreifen Hündinnen ist das Epithel zweilagig mit flachen kuboidalen Zellen.

Der Übergang des cervicalen zu vaginalem Epithel kann nicht genau abgegrenzt werden (el-Banna und Hafez, 1972).

Im Schleimhautepithel kommen vereinzelt Flimmerzellen und Becherzellen vor (Mosimann und Kohler, 1990). Schleimbildende Zellen werden ebenfalls in der bovinen und in der humanen Cervix beschrieben (Smollich, 1992; Eggert-Kruse, 1997).

Für den Transport des Cervicalmukus sind Zilienzellen verantwortlich, die einzeln oder in Gruppen angeordnet sind. Sie werden beim Affen und beim Kaninchen beschrieben (Hafez und Kanagawa, 1972; Chilton et al., 1980). Diese mit Kinozilien behafteten Zellen treten weiterhin beim Rind auf (Liebich, 1993) und werden ebenso beim Pferd nachgewiesen (Huchzermeyer, 2003).

Die *Lamina propria* setzt sich aus lockerem, proliferationsaktivem kollagenem Bindegewebe zusammen, dessen dichte scherengitterartig angeordnete Faserbündel die Grundlage der Schleimhautfalten bilden. Verzweigte Fasernetze stehen mit der außen aufliegenden Muskelschicht in Verbindung (Liebich, 1993). Die mit kollagenen Fasern durchsetzte Bindegewebsschicht stellt sich zellarm dar (Smollich, 1992).

Die *Lamina propria* ist aufgegliedert in kulissenartig gestaffelte Lamellen, deren Verschieben ein Öffnen und Schließen des *Canalis cervicis* ermöglicht (Smollich, 1992).

Über das Vorhandensein von Cervicaldrüsen beim Hund gibt es unterschiedliche Angaben. Einige Autoren verweisen auf ein ausschließliches Vorkommen der Cervicaldrüsen beim Fleischfresser (Smollich, 1992). Im Gegensatz dazu beschränkt sich die Beschreibung der Drüsenhaltigkeit der Cervicalschleimhaut des Fleischfressers bei Schummer und Vollmerhaus (1987) auf die Katze. Diese felines schlauchförmigen Cervicaldrüsen befinden sich in der *Lamina propria* (Leiser, 1999).

El-Banna und Hafez (1972) beobachten beim Hund einen Übergang des uterinen drüsenhaltigen Epithels bis in den cranialen Abschnitt des Cervixkanals.

Ortsständige Zellen der Bindegewebsschicht sind Fibroblasten, die unregelmäßige Zellausläufer besitzen. Sie gewährleisten die Kollagensynthese und Grundsubstanzbildung. Außerdem finden sich Fibrozyten als kleine, spindelförmige Zellen, die zwischen den Faserbündeln liegen (Liebich, 1993).

Mobile Zellen, die in das Bindegewebe einwandern und dort lokale Aufgaben erfüllen können, sind Lymphozyten, Plasmazellen, Mastzellen und Monozyten (Liebich, 1993). Weiterhin kommen Langerhans-Zellen vor, die mittels zytoplasmatischer Fortsätze ein Netzwerk ausbilden (Morris et al., 1983).

In der *Lamina propria* befinden sich bei Pferd und Hund ein Venen-Plexus sowie myelinisierte und nicht-myelinisierte Nervenfasern, die auch in der *Tunica muscularis* vorkommen (Priedkalns, 1987).

Der *Lamina propria* aufliegend folgt die *Tunica muscularis*, die aus einer zirkulären Ringmuskelschicht und longitudinal verlaufenden glatten Muskelfasern besteht. Die Muskelzellen sind durchsetzt von einem Netz aus feinfibrillärem elastischem und kollagenem Bindegewebe, welches zur Festigung und Kontraktilität beiträgt (Liebich, 1993).

Bei der Hündin gehen die zirkulär verlaufenden Muskelfasern caudal in die Muskulatur der Dorsalfalte der Vagina und cranial in die kontraktilen Elemente des Uterus über.

Der kreisförmigen Muskulatur aufgelagert liegen die longitudinalen Muskelfasern, die den vaginalen Blindsack und das ventrale Lumen der Paracervix begrenzen (Roszel, 1992).

Die biomechanischen Eigenschaften der *Cervix uteri* hängen von ihrem Bindegewebs- und Muskulaturanteil ab. Für die einzelnen Spezies sind unterschiedliche prozentuale Zusammensetzungen der beiden Komponenten festgestellt worden.

Die menschliche Cervix hat einen vom Uterus zur Vagina hin abnehmenden Gehalt an Muskulatur. In histologischen Schnitten lässt sich ein durchschnittlicher Anteil glatter Muskeln von 6,4 % im caudalen, 18,0 % im mittleren und 28,8 % im cranialen Teil der Cervix feststellen. Der Muskelzellgehalt liegt damit deutlich unter dem des Uterus mit 68,8 % (Rorie und Newton, 1967).

Im Vergleich dazu enthält die Cervix der Ratte mit 25 - 38 % deutlich höhere Anteile glatter Muskulatur (Harkness und Harkness, 1959).

Bei einer Unterteilung der caninen Cervix in einen cranialen und einen caudalen, portionalen Abschnitt ergeben sich für den cranialen Abschnitt Werte von 38,07 % Muskulatur und 61,93 % Bindegewebe; im caudalen Abschnitt beträgt das Verhältnis 39,63 % zu 60,37 % (Schuh, 1993).

Den Abschluss bildet die *Tunica serosa cervicis* und ein in das parametrale Bindegewebe eingebettetes *Stratum vasculare* (Schummer und Vollmerhaus, 1987).

2.1.3 Funktion

Der *Cervix uteri* als Verbindung zwischen dem cranialen und caudalen Genitaltrakt werden verschiedene Funktionen zugesprochen. Sie dient als Barriere gegen aufsteigende Keime aus dem Vaginalbereich, gewährleistet die Durchlässigkeit von Spermien in der fertilen Phase bei Scheidenbesamern, erfüllt eine Verschlussfunktion während der Gravidität und dilatiert vollständig unter der Geburt (Übersicht bei Eggert-Kruse, 1997).

Hier ist auf den schlitzförmigen Querschnitt der *Cervix uteri* hinzuweisen, durch den ein Verschluss ohne energetischen Aufwand der Muskulatur gewährleistet ist. Die humane Cervix wird daher als spindelförmig beschrieben und befindet sich im geschlossenen Zustand in Ruhephase. Der vollständigen Öffnung der Cervix gehen hormonell bedingte Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften des cervicalen Gewebes voraus. Die Öffnung wird durch internen Druck gewährleistet. Geht man stattdessen von einem zirkulären Querschnitt aus, so wäre ein Verschluss nur durch externen Druck aufrechtzuerhalten, der mit konstantem Energieaufwand verbunden wäre (Aspen, 1987).

Die Faltenbildung der Cervixschleimhaut bewirkt eine Vergrößerung der sezernierenden Oberfläche und eine Verstärkung des Verschlussmechanismus. Die bindegewebigen Fasern innerhalb der Falten sind so angeordnet, dass ein Verstreichen der Falten während des Geburtsvorganges möglich ist (Liebich, 1993).

Während der fertilen Periode reguliert die Cervix bei Scheidenbesamern den Spermiedurchtritt sowie die Filtrierung und Selektion morphologisch und funktionell intakter Spermatozoen. Eine gewisse Spülfunktion dient der Entfernung des Seminalplasmas und inhibierender Faktoren. Die Cervix des Menschen ist befähigt, Spermien über einen gewissen Zeitraum verzögert freizusetzen und damit das Zusammentreffen mit einer fertilen Eizelle zu begünstigen (Eggert-Kruse, 1997).

Die Öffnungsphase der caninen Cervix begrenzt nach vaginaler Besamung durch den Rüden den Spermien-Transport in den cranialen Genitaltrakt.

Tsutsui et al. (1989) beobachten, dass im späten Östrus nach natürlicher oder künstlicher vaginaler Insemination die Spermien den cranialen Genitaltrakt nicht erreichen.

In Kontrastmitteluntersuchungen wird gezeigt, dass der Cervixverschluss bei der Hündin $6,7 \pm 1,4$ Tage nach dem LH-Peak eintritt (Silva et al., 1995).

In einer vergleichenden Studie zwischen intrauteriner und vaginaler Besamung von Beagle-Hündinnen 24, 48 und 72 Stunden nach dem Cervixverschluss tritt eine erfolgreiche Befruchtung nur bei den transcervical bzw. laparoskopisch intrauterin besamten Tieren ein. Auch hier wird der Zeitpunkt des Cervixverschlusses mit $6,9 \pm 1,1$ Tagen nach dem LH-Peak angegeben (Verstegen et al., 2001).

Die *Cervix uteri* stellt eine Hürde für mikrobielle aufsteigende Infektionen aus dem Vaginalbereich dar. Hierbei ist zwischen der physiologischen bakteriellen Besiedlung der Schleimhäute bzw. fakultativ und obligat pathogenen Keimen zu unterscheiden. In mikrobiologischen Untersuchungen an der Pferdecervix wurde gezeigt, dass eine Keimreduktion entlang der caudo-cranialen Achse stattfindet. Im Vestibulum und in der Vagina wurden fakultativ pathogene Keime nachgewiesen. Die Anzahl der positiven Befunde nahm in Cervix und Uterus deutlich ab. Die stärkste Reduktion der fakultativ pathogenen Keime wurde beim Pferd am Übergang Vestibulum zu Vagina, die der apathogenen Keime am Übergang Vagina zu Cervix beobachtet. Es reduzierte sich zum einen die Anzahl der positiven Keimnachweise, aber auch die Ausprägungsintensität des Keimnachweises im cranialen Genitaltrakt. Cervical und intrauterin handelte es sich überwiegend um apathogene Keimspezies, wobei sich der Uterus auch als keimfrei darstellte (Huchzermeyer, 2003).

In einer Studie von Watts et al. (1996) wurden mikrobiologische Untersuchungen an Uterus, Cervix und Vagina der Hündin durchgeführt. Während aller Zyklusphasen wurden

uterine Proben transcervical gewonnen sowie post mortem Proben aus dem Uterus, der Cervix und der Vagina entnommen. In der Cervix und in der Vagina wurden bei einem Teil der Tiere Bakterien nachgewiesen, die gleichzeitig nicht im Uterus vorkamen. Auffällig war, dass im Proöstrus und im Östrus, im Gegensatz zu den anderen Stadien des Reproduktionszyklus, regelmäßig positive bakterielle Befunde im Uterus erhoben wurden. Zu gleichem Zeitpunkt entnommene Proben aus Cervix und Vagina ergaben bei positivem Nachweis die gleiche Keimspezies wie im Uterus. Die Autoren schließen auf eine physiologische, bei der gesunden Hündin vorliegende, uterine Mikroflora im Proöstrus und im Östrus, die identisch ist mit der Keimbesiedlung in Cervix und Vagina.

Eine weitere Barriere gegen aufsteigende Infektionen stellt der pH-Wert dar. In einer Studie wurden unmittelbar post mortem regionale Unterschiede des pH-Wertes in Vagina, Cervix und Uterus des Rindes im Interöstrus ermittelt. Die Messungen ergaben, dass der pH-Wert der Cervix deutlich unter den Werten von Vagina und Uterus liegt, wobei vaginal der pH-Wert am höchsten ist (Wehrend et al., 2003a).

2.2 Abwehrzellen im cervicalen Gewebe

Immunkompetente Zellen in Cervix und Vagina dienen der zellulären und humoralen Abwehr gegen Infektionserreger. Die muköse Oberfläche der Schleimhäute besitzt ein spezifisches Abwehrsystem, das als „mucosa associated lymphoid tissue“ oder MALT bezeichnet wird (Isaacson und Wright, 1984).

Das MALT besteht aus intraepithelialen Zellen zur Erkennung und Präsentation von Antigenen wie Langerhans-Zellen, intra- und subepithelialen T-Lymphozyten und subepithelialen B-Lymphozyten, die dimeres IgA produzieren und sezernieren (Fox, 1993).

Langerhans-Zellen befinden sich im basalen und mittleren Bereich des Epithels in unmittelbarer Nähe von Kapillaren und Lymphozytenaggregaten (Morris et al., 1983; Edward und Morris, 1985; Tay et al., 1987a).

Diese antigenpräsentierenden Zellen im Cervixepithel liegen beim Menschen in einer Dichte von 74-145 Zellen/mm² vor. Ihre dendritischen Fortsätze verzweigen sich zwischen den Zellen und reichen von der Basalmembran bis in die oberflächlichen Schichten (Morris et al., 1983).

Die intra- sowie subepitheliale T-Zell-Lymphozytenpopulation in der Cervix besteht vor allem aus Suppressor- und cytotoxischen T8-Zellen. In geringer Menge werden T4-Helfer-Zellen nachgewiesen (Morris et al., 1983; Edwards und Morris, 1985; Peters, 1986; Tay et al., 1987b; Roncalli et al., 1988; Fox, 1993).

Nach Roncalli et al. (1988) befinden sich im Stroma hauptsächlich T4-Zellen. Natürliche Killerzellen können nicht oder nur in sehr geringen Mengen im Bindegewebe der Cervix nachgewiesen werden (Tay et al., 1987c; Roncalli et al., 1988).

B-Lymphozyten dienen der humoralen Immunabwehr durch Produktion und Sekretion von Immunglobulinen. Sie befinden sich in der Cervix vor allem im subepithelialen Bereich und reagieren auf antigene Stimulation mit der Produktion von spezifischen Antikörpern. Die vorherrschenden Antikörper sind Immunglobuline der Klasse IgA. Das sekretorische IgA ist das hauptsächlich vorkommende Immunglobulin im cervicalen Mukus (Vaerman, 1973). Es zeichnet sich durch virusneutralisierende Eigenschaften aus, hemmt die Anheftung von Mikroorganismen auf der Schleimhautoberfläche und ist beteiligt an der Komplementaktivierung auf dem alternativen Weg. Weiterhin wirkt es bakterizid in

Verbindung mit Lysozym und Komplement, dient der Opsonisierung von Antigenen für die Phagozytose durch Makrophagen und verhindert den Eintritt von Antigenen in die Schleimhaut durch Bildung von nicht-absorbierbaren Komplexen (Doe, 1982).

Interessant ist, dass die Zahl der IgA produzierenden Immunozyten in der lutealen Phase deutlich erhöht ist, im Gegensatz zu erniedrigten Anzahlen bei hohen Östrogenwerten (Coughlan und Skinner, 1977; Saha et al., 1981).

Verglichen mit Vagina und Uterus befindet sich in der humanen Cervix eine deutlich erhöhte Anzahl an Plasmazellen (Vaerman und Férin, 1974).

Leukozyten wird eine Rolle in der Cervixreifung zugesprochen, wobei durch Leukozytendegranulation eine Kollagenolyse ausgelöst wird (Hibbs et al., 1982).

Die Zirkulationsdauer der eosinophilen Granulozyten im Blut beträgt nur kurze Zeit; Mediatorstoffe wie spezifische Zytokine und Histamine aus Mastzellen aktivieren die zur amöboiden Eigenbewegung fähigen eosinophilen Granulozyten und bewirken deren Auswanderung ins Gewebe. Eosinophile Granulozyten haben ihre Funktion in der Regulation von allergischen Erkrankungen, der Blutkoagulation, der Phagozytose, in der Abwehr von parasitären Infektionen und im akuten Entzündungsgeschehen (Sun et al., 1991; Fawcett, 1994). Durch Bindung von Faktoren des Komplementsystems an Oberflächenrezeptoren werden sie zur Entleerung ihrer Granula angeregt. Diese enthalten unter anderem Peroxidasen, Phosphatasen, Wachstumsfaktoren, Zytokine und Kollagenasen (Jain, 1986).

Lokal im Gewebe kommt ihre Fähigkeit zum Tragen, die Wirkung von Entzündungsmediatoren durch die Abgabe von Prostaglandinen aus ihren Granula einzudämmen. Die Freisetzung von Histamin, Serotonin und einem durch Thrombozyten aktivierten Phospholipid (PAF) aus den Mastzellen wird inhibiert und mittels Peroxidasen und Phospholipase C weitere aus den Mastzellen stammende Entzündungsmediatoren deaktiviert (Fawcett, 1994).

Eosinophile Granulozyten haben wahrscheinlich auch in der lokalen Abwehr von Infektionen in der Cervix eine Bedeutung (Kelly, 1994). Sie finden sich bei einigen Spezies peripartal im cervicalen Gewebe. Es wird vermutet, dass eosinophile Granulozyten die Permeabilität des Gewebes für Hormone und andere Substanzen beeinflussen (Hibbs et al., 1982; Milks et al., 1986).

Die Infiltration von eosinophilen Granulozyten gilt als ein hormonabhängiger Mechanismus. Grund hierfür ist eventuell ein chemotaktisch aktives Protein (Lee et al.,

1989) oder eine Expression von Östrogenrezeptoren (Katayama et al., 1998; Stygar et al., 2001). Generell wird beobachtet, dass eine erhöhte Dichte von eosinophilen Granulozyten im cervicalen und vaginalen Gewebe bei hohen Östrogenwerten vorliegt (Luque et al., 1998; Ramos et al., 2000). Hohe Progesteronwerte unterdrücken eine Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten (Ramos et al., 2000).

So ist bei der Ratte beschrieben, dass hohe Östrogenwerte die Einwanderung der eosinophilen Granulozyten stimulieren, während Progesteron die Einwanderung hemmt (Lee et al., 1989; Luque et al., 1998). In Studien an ovariectomierten Ratten wurde nach Östrogen- sowie nach Östrogen-Relaxin-Gabe eine erhöhte Dichte von eosinophilen Granulozyten im Cervixgewebe beobachtet (Luque et al., 1996; Luque et al., 1998).

Eosinophile Granulozyten werden als die Hauptpopulation der intrapartalen Leukozyteninfiltration bei Ratte, Maus und Rind beschrieben, während beim Mensch und beim Schaf die neutrophilen Granulozyten überwiegen (Junqueira et al., 1980; Robertson et al., 2000; Wehrend et al., 2004b).

Die physiologische Funktion der Infiltration von eosinophilen Granulozyten kann mit der Synthese und Freisetzung von Entzündungsmediatoren und der Produktion von Cytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren erklärt werden (Lacy und Moqbel, 2001; Walsh, 2001).

Mastzellen sind in vielen Organen als Bestandteil des Bindegewebes vertreten. In der Cervix des Menschen wird eine erhöhte Zelldichte intra partum festgestellt (Junqueira et al., 1980). Spanggaard et al. (1997) demonstrieren in immunhistologischen Untersuchungen eine erhöhte Zellzahl an Mastzellen im Cervixgewebe von trächtigen und sich intra partum befindenden Ratten. Ebenso lassen sich Mastzellen in der bovinen Cervix nachweisen (Wrobel, 1971).

Mastzellen spielen eine Rolle in Entzündungsprozessen, in der Regulierung von Blutgefäßen und in allergischen Reaktionen vom anaphylaktischen Typ. Sie entstehen im Knochenmark, entwickeln sich zu Vorläuferzellen und gelangen über den Blutstrom ins Gewebe, wo sie eine Lebensdauer von einigen Wochen bis Monaten besitzen (Fawcett, 1994). Dort befinden sie sich vor allem in der Nähe von Blutgefäßen (Galeotti et al., 1997). Sie stehen aufgrund der Produktion von Proteoglykanen wie Heparin in Zusammenhang mit der Synthese der Bindegewebsgrundsubstanz. Es wird eine neuroimmune Verbindung der Mastzellen zu Nervenfasern über synapsenartige Verbindungen vermutet (Reibiger und Spaniel-Borowski, 2000). In ihren sekretorischen Granula befinden sich spezifische

Mediatorstoffe; Histamin und ein spezifischer eosinophiler chemotaktischer Faktor führen zur Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten (He et al., 1997). Eine in den Granula enthaltene Tryptase bewirkt die Chemotaxis der Granulozyten und stimuliert die Kollagenproduktion und -freisetzung durch Fibroblasten (Cairns und Walls, 1997). Weitere sich in den Granula befindende Stoffe sind neutrale Proteinase, Eicosanoide, Proteoglykane und Zytokine. An der Oberfläche der Mastzellen treten IgE-Rezeptoren auf, die mit antigenen Substanzen reagieren und über die Freisetzung von Entzündungsmediatoren aus den sekretorischen Granula eine allergische Reaktion induzieren (Bradding et al., 1995).

2.3 Zyklusabhängige Veränderungen der Cervix beim Hund

Die Steuerung des caninen Sexualzyklus obliegt dem Zusammenspiel der Hormone von Hypothalamus, Hypophyse und den Gonaden.

Von besonderem Interesse ist der Zeitpunkt der Cervixöffnung, die etwa 2 - 3 Tage vor dem LH-Peak stattfindet. Der Tag der Cervixöffnung fällt zusammen mit dem höchsten Östrogen- zu Progesteronverhältnis, welches durch ansteigende Östrogenwerte bei noch basalen Progesteronwerten entsteht. Nachfolgend kommt es zu einem Abfall der Östrogenwerte und dem präovulatorischen Anstieg von Progesteron. Die mit Kontrastmittel nachgewiesene Cervixöffnung besteht etwa 9 Tage und endet mit hohen Progesteron- und fast basalen Östrogenwerten 3 Tage vor Östrusende (Silva et al., 1995).

Entsprechend der jeweiligen Zyklusphase sind morphometrische Veränderungen der *Tunica mucosa* und der *Tunica muskularis* zu beobachten.

Vor der Geschlechtsreife weist das canine Cervixepithel zweilagige flache prismatische Zellen auf (Roszel, 1992).

Proöstrisch entwickelt sich die Innenauskleidung des Cervicalkanals zu einem vier- bis sechslagigen prismatischen Epithel.

Im Östrus nehmen die Vaskularisierung und die Epithelhöhe zu. Es kommt zu einer starken Ödematisierung der Schleimhaut, die Oberfläche wird fester und kompakter (Roszel, 1992; Lübke, 1997). Das östrische Epithel besteht aus vier bis fünf Lagen nicht verhornter mehrschichtiger squamöser Zellen mit einigen apoptotischen Körpern. Zeitgleich nehmen

die während des Proöstrus zahlreichen tiefen Invaginationen des Epithels im Östrus weiter zu. Sie reduzieren sich postovulatorisch wieder (Roszel, 1992).

Nach Lübke (1997) schilfern sich teilweise nach der Ovulation die verhornten Epithelschichten an der *Portio vaginalis cervicis* großflächig ab und spiegeln die Oberflächenstruktur wider.

Ab der Mitte des Metöstrus lassen sich keine squamösen Epithelzellen, sondern nur zwei Lagen hoher prismatischer Epithelzellen nachweisen (Roszel, 1992).

Zyklusabhängig verändert sich auch der Aufbau der *Tunica muscularis*. Bereits im Proöstrus beginnt eine muskuläre Hypertrophie, die ihr Maximum im Östrus erreicht (Roszel, 1992).

Im frühen Metöstrus verringert sich die muskuläre Hypertrophie. Im späten Metöstrus und Anöstrus ist der muskuläre Status mit dem nicht-geschlechtsreifer Tiere vergleichbar.

Eine muskuläre Atrophie der Cervix ist bei kastrierten Hündinnen zu beobachten (Roszel, 1992).

2.4 Graviditäts- und geburtsbedingte Veränderungen

Das Erscheinungsbild der Cervix verändert sich während der Gravidität. In der frühen Phase kommt es zur Hypertrophie und zunehmender Vaskularisierung. In der zweiten Hälfte der Trächtigkeit wird die Cervix weicher, bleibt aber in ihrer Form und Größe erhalten. Wenige Tage vor der Geburt erfolgt die Cervixreifung, die mit einer Verringerung der Cervixlänge einhergeht (Liggins, 1978). Die Reifung der Cervix umfasst eine Veränderung ihrer biomechanischen Gewebeeigenschaften, die mit einer Infiltration von Abwehrzellen verbunden ist (Spanggaard et al., 1997).

Die Einwanderung von Makrophagen während der Gravidität und Geburt spielt für die Kontraktilität des Uterus und für die Reifung der Cervix eine Rolle. Makrophagen produzieren eine Vielzahl von Faktoren, einschließlich Prostaglandine und Zytokine, die die Uteruskontraktilität regulieren (Steinborn et al., 1998).

Zum Geburtszeitpunkt befindet sich eine hohe Dichte an Makrophagen im murinen cervicalen Gewebe (Mackler et al., 1999).

Während der Gravidität kommt es bei Mäusen zu einem signifikanten Anstieg der Makrophagendichte im Uterus und in der Cervix, die bis zum Tag der Geburt wieder abnimmt. Eine hohe Dichte von Makrophagen geht einher mit verminderten uterinen Kontraktionen. Dies hängt eventuell mit der erhöhten Produktion einer induzierbaren Nitrit-Oxit-Synthetase, wahrscheinlich aus Makrophagen stammend, zusammen (Mackler et al., 1999). Daher hebt sich mit der Reduktion der Makrophagenzahl auch die Ruhigstellung des Myometriums auf (Mackler et al., 1999).

Zum Zeitpunkt der Geburt erfolgt ein Anstieg von Kollagenasen und proteolytischen Enzymen, die unter anderem aus infiltrierten Leukozyten stammen. Hierbei dominieren intra partum eosinophile Granulozyten im cervicalen Gewebe bei der Ratte (Luque et al. 1998) sowie beim Rind (Wehrend et al., 2004b). Im Gegensatz dazu bleibt die Infiltration von eosinophilen Granulozyten in der ovinen Cervix aus (Wehrend et al., 2004b) und wird von neutrophilen Granulozyten getragen (Luque et al., 1997). Junqueira et al. (1980) und Osmer et al. (1992) sehen neutrophile Granulozyten bei der Frau als Ursprung der Kollagenasen und proteolytischen Enzyme an.

2.5 Hormonelle Regulation des caninen Reproduktionszyklus

2.5.1 Einteilung der Zyklusphasen

Der canine Reproduktionszyklus wird in die Zyklusphasen Proöstrus, Östrus, Metöstrus und Anöstrus unterteilt (Feldman und Nelson, 2003). Proöstrus und Östrus werden zusammen als Läufigkeit bezeichnet (Berchtold, 1997).

Die Dauer des Proöstrus wird mit 3-16 Tagen, die des Östrus mit 4-12 Tagen angegeben. Daran schließt sich der Metöstrus an, der bei der graviden Hündin durch die Geburt auf 59-65 Tage terminiert wird und im ingraviden Zyklus bis zu 90 Tage dauert. Die Dauer des Anöstrus variiert zwischen 15 und 265 Tagen und ist individuell verschieden (Höveler, 1991).

2.5.2 Morphologische und hormonelle Veränderungen während der Zyklusphasen

2.5.2.1 Proöstrus

Der Proöstrus ist gekennzeichnet durch Diapedesisblutungen, die sich in blutigem Vaginalausfluss äußern. Im Verlauf des Proöstrus nimmt die Ödematisierung der Vulva zu und die Vaginalschleimhaut stellt sich feucht und längsgefaltet dar. Vaginalzytologisch finden sich zunehmend Intermediär- und Superfizialzellen, während die Anzahl der Basal- sowie der Parabasalzellen und die Anzahl der Erythrozyten am Ende des Proöstrus abnehmen (Hayer et al., 1993; Monniaux et al., 1997).

Im Ovar bilden sich Follikel an, die zu ansteigenden Östrogenwerten im Plasma führen. Dieser Östradiolanstieg beginnt bereits einige Wochen vor der Läufigkeit (Edqvist et al., 1975; Olson et al., 1982). Im Proöstrus werden Östradiolwerte von bis zu 90 pg/ml Plasma erreicht, die zum Ende des Proöstrus auf Basalwerte von 10-20 pg/ml abfallen (Jones et al., 1973). Die Progesteronwerte liegen im Proöstrus unter 1 ng/ml und steigen erst im Übergang zum Östrus auf Werte über 1 ng/ml an. Dieser präovulatorische Anstieg lässt auf eine partielle Luteinisierung von Zellen in den Follikeln bereits vor der Ovulation schließen (Weilenmann et al., 1993). Die rasche Änderung des Östrogen- zu Progesteronverhältnisses durch Abfall des Östrogens bei steigendem Progesteronwerten ist für den klinischen Östrusbeginn, der sich in der Deckbereitschaft äußert, verantwortlich (Leedy, 1988). Der veränderte Quotient von Östrogen zu Progesteron am Ende des Proöstrus bewirkt ein positives Feedback auf Hypothalamus und Hypophyse und resultiert in einer erhöhten LH-Freisetzung bis zu dem die Ovulation auslösenden LH-Peak (Concannon, 1987).

2.5.2.2 Östrus

Der Beginn des Östrus ist klinisch definiert als der erste Tag der Duldung einer Bedeckung (Phemister et al., 1973; Concannon et al., 1977). Diese Phase der sexuellen Akzeptanz des Rüden ist gekennzeichnet durch einen Rückgang der Ödematisierung der Labien und das Sistieren des blutigen Vaginalausflusses. Im Vaginalabstrich lassen sich vor allem kernlose verhornte Superfizialzellen nachweisen, die sich unter Progesteroneinfluss zu Nestern zusammenlagern. Erythrozyten sind nicht mehr zu finden (Gerres, 1991, Tammer et al., 1994).

Zu Beginn des Östrus erfolgt der LH-Peak, der Maximalwerte in den ersten zwei Tagen erreicht und bis zu 86 Stunden anhält. Die Ovulationen erfolgen nach der Reifung der Grafschen Follikel zu sprungreifen Follikeln etwa 48 bis 62 Stunden nach dem LH-Peak (Jones et al., 1973). Die Progesteronkonzentrationen befinden sich nach Luteinisierung der Tertiärfollikel zum Zeitpunkt der Ovulation bei $4,9 \pm 1,0$ ng/ml (Bouchard et al., 1991) und steigen weiter auf Werte über 20 ng/ml Plasma (Concannon, 1993). Östrogene sinken bereits 24 bis 48 Stunden vor dem LH-Peak auf basale Werte ab. Im Zusammenhang mit dem LH-Peak ist ein 4-5 tägiger FSH-Peak zu beobachten, dessen längere Zeitdauer durch eine höhere Halbwertszeit des FSH im Vergleich zum LH erklärt wird (Olson et al., 1982, Concannon, 1993).

2.5.2.3 Metöstrus

Der Metöstrus oder auch Diöstrus beginnt etwa $6,8 \pm 1,6$ Tage nach der Ovulation (Bouchard et al., 1991). Die Ödematisierung der Vulva nimmt ab und die Phase der sexuellen Akzeptanz ist beendet. Im Abstrich treten vor allem neutrophile Granulozyten auf (Tammer et al., 1994).

Nach Anbildung der *Corpora lutea* dominiert Progesteron, welches sich für etwa 20 Tage auf einem Niveau von 30 ng/ml hält und zum Ende des Metöstrus auf basale, anöstrische Werte von weniger als 1 ng/ml abfällt (Weilenmann et al., 1993). Concannon et al. (1989) geben für diesen Zeitraum Progesteronwerte von bis zu 90 ng/ml an. Die Funktionalität der *Corpora lutea* erscheint in den ersten 20 Tagen des Diöstrus weitgehend gonadotropinunabhängig, da weder das Entfernen der Hypophyse noch das Ausschalten von LH und Prolaktin eine Veränderung an den Ovarien bewirken. Eine Hypophysektomie nach dem 20. Tag hingegen führt zu einem Abfall des Progesterons im Plasma, welches erst nach Gabe von LH wieder ansteigt (Concannon, 1980; Okkens et al., 1986; Concannon, 1987).

Als luteotrope Faktoren bei der Hündin werden LH (Concannon, 1980) und Prolaktin besonders in der 2. Hälfte der lutealen Phase verantwortlich gemacht (Okkens et al., 1985a, 1985b, 1986, 1990; Concannon, 1987; Schaefers-Okkens, 1988). Ein Anstieg des Prolaktins im späten Metöstrus besteht bei trächtigen und nicht-trächtigen Tieren (de Coster et al., 1983; Concannon, 1986).

Der hormonelle Verlauf von Progesteron und Östrogen ist bei graviden und ingraviden Hündinnen bis kurz vor dem Geburtszeitpunkt nahezu identisch. Bei der Hündin steigt Progesteron bis zum 30. Tag der Gravidität an und sinkt erst im letzten Drittel der Gravidität wieder rapide ab (Concannon, 1984; 1986). Die Progesteronkonzentration liegt 36 bis 48 Stunden vor der Geburt bei weniger als 2 ng/ml. Bei darüber liegenden Werten kann die Geburt komplett gehemmt werden (Nelson et al., 1982). Hoffmann et al. (1996) geben den Zeitpunkt des Progesteronabfalls, der nicht von einem Prostaglandinanstieg abhängt, mit 24 Stunden vor der Geburt an.

Progesteron ist notwendig für die Entwicklung der endometrialen Drüsen, die Sekretion uterinen Fluids, das endometriale Wachstum und die Hemmung der uterinen Motilität sowie der Leukozyten-Reaktionsfähigkeit im Uterus (Nelson et al., 1982).

Basale Östrogenwerte von 5-15 pg/ml liegen in den ersten 5-6 Wochen der Gravidität vor. Zu einem späteren Zeitpunkt in der Gravidität zeigt sich ein leichter Anstieg, der sich aber unter Werten von 20 pg/ml befindet. Dieser Östrogenspiegel besteht bis kurz vor der Geburt und fällt dann zum Zeitpunkt der Geburt ab. Östrogen wird eine Unterstützung in der Entwicklung des Gesäuges zugesprochen und ist eventuell an der Relaxation der *Cervix uteri* beteiligt (Feldman und Nelson, 2003).

Die Relaxin-Serumkonzentration liegt bei nicht-trächtigen Tieren unter 0,25 ng/ml im Diöstrus, steigt aber bei trächtigen Tieren 6-7 Wochen nach der Konzeption auf Werte über 3,0 ng/ml an. Relaxin ist in erster Linie placentären Ursprungs (Tsutsui und Stewart, 1991). Einspanier et al. (2002) sehen einen signifikanten Anstieg am 24. Tag nach der Ovulation als Nachweis der Trächtigkeit bei der Hündin. Die Induktion eines Abortes mit Prostaglandin $F_{2\alpha}$ resultiert in erniedrigten Relaxinspiegeln durch Abbau der Plazenta. Relaxin wirkt zusammen mit Östradiol, Progesteron und Prostaglandinen an den strukturellen Umbaumechanismen der Cervix mit. Diese Veränderungen ermöglichen eine erhöhte Dehnbarkeit unter der Geburt (Porter, 1981).

Ein Anstieg des Prolaktins erfolgt 30 bis 40 Tage vor der Geburt, signifikant höher als bei ingraviden Hündinnen zum vergleichbaren Zeitpunkt des Metöstrus (de Coster et al., 1983). Prolaktin ist wahrscheinlich hypophysären Ursprungs, könnte zum Teil aber auch von der Plazenta oder aus dem Uterus stammen (Concannon und Yeager, 1990). Die Prolaktinkonzentration im Serum erreicht 1 bis 2 Tage vor der Geburt einen Peak, sinkt kurzfristig ab und steigt aufgrund des Saugens der Welpen nach der Geburt wieder an (Porter, 1981; Concannon et al., 1989).

Zu den lokal aktiven Hormonen gehört das Prostaglandin $F_{2\alpha}$, welches wahrscheinlich aus Plazenta und Myometrium stammt (Concannon et al., 1988). Die Prostaglandinsynthese kurz vor der Geburt wird durch Östrogene gefördert, währenddessen Progesteron diesen Effekt hemmt. Oxytocin stimuliert ebenfalls die Abgabe von Prostaglandinen. Östrogene fördern demnach direkt und indirekt über die Beeinflussung von Oxytocinrezeptoren die Produktion von Prostaglandinen (Porter, 1981).

2.5.2.5 Anöstrus

Der Anöstrus ist gekennzeichnet als eine Phase der sexuellen Inaktivität oder Brunstlosigkeit und schließt sich dem Diöstrus bzw. der Geburt an. Im Gegensatz zu saisonalen Tieren, bei denen das Ovargeschehen weitgehend durch exogene Faktoren gesteuert wird, sind hierfür bei der asaisonalen monöstrischen Hündin vor allem endogene Einflüsse verantwortlich.

Für die Terminierung des Anöstrus werden Faktoren in Erwägung gezogen, die die Prolaktinsekretion regulieren. Eine Unterbrechung des Anöstrus mit Auslösung eines fertilen Zyklus kann durch Dopamingaben erreicht werden, die zur verminderten Prolaktinsekretion und zu einer Zunahme der LH-Freisetzung führen (Onclin et al., 1995). Ebenso ist es möglich, durch pulsatile GnRH-Gaben (Cain et al., 1988; Concannon et al., 1997) oder LH-Applikation einen fertilen Östrus auszulösen (England und Allen, 1991; Verstegen et al., 1997). Physiologischerweise wird LH auch während des Anöstrus pulsatil ausgeschüttet. Die Menge steigt zum Ende des Anöstrus an (Olson et al., 1982; Jeffcoate, 1993; Hoffmann et al., 1996).

Die Progesteronkonzentration im Ovargewebe bleibt bis zum 150. Tag auf erhöhtem Level und fällt dann erst auf basale Werte ab (Verstegen et al., 1996). Die Serumkonzentration von Progesteron befindet sich im Anöstrus auf basalem Level (Feldman und Nelson, 2003).

Im späten Anöstrus steigt FSH an und ähnelt den Werten des präovulatorischen FSH-Anstieges. Es wird vermutet, dass dies der Rekrutierung von genügenden Follikeln für den nächsten Zyklus dient (Olson et al., 1982). Diese Follikel sind für die anöstrischen fluktuierenden Östrogenanstiege verantwortlich. Sie degenerieren nach einer kurzen Phase und bilden somit ohne Luteinisierung auch kein Progesteron. Im frühen und mittleren Anöstrus kann Östrogen nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen

werden. Ein leichter Anstieg des Östrogens erfolgt erst etwa einen Monat vor Beginn des Proöstrus (Olson et al., 1982).

2.6 Hormonabhängige Veränderungen der Cervix

Die hormonellen Veränderungen im Zyklus wirken sich auf das Cervixepithel, die Struktur des Bindegewebes und der Muskulatur sowie auf ihre biomechanischen Eigenschaften aus.

2.6.1 Östrogene

Östrogene gehören zu den Steroidhormonen und haben außer ihrer Bedeutung im Reproduktionsgeschehen vielfältige Wirkungen auf das Stoffwechselgeschehen. Die Bildungsstätte stellen beim weiblichen Tier die Granulosazellen der Follikel, die Nebennierenrinden und tierartlich unterschiedlich die Plazenta dar (Oettel, 1996).

Östrogene nehmen Einfluss auf die Größe und das Gewicht der Cervix und führen zu einer Reduktion der Kollagenkonzentration (Fitzpatrick und Liggins, 1980). Ovariectomierte Mäuse zeigen nach einer Östradiolbenzoat-Behandlung ein Dickenwachstum der Cervixwand mit locker verstreuten Fibrillenbündeln (Leppi et al., 1982).

Östradiol-17 β führt somit zu einer Auflockerung des Faserverbundes und einer Zunahme der Grundsubstanz. Eine zeitgleiche Prostaglandinapplikation vermittelt beim Schaf eine Trennung der Kollagenbündel, die bei separatem Östrogenanstieg ausbleibt (Owiny und Fitzpatrick, 1990).

Nach Luque et al. (1998) führt eine alleinige Östrogenbehandlung nicht zu einem Kollagenumbau mit reduzierter Kollagenorganisation und Dichte. Dagegen zeigt sich bei In-vitro-Präparaten humaner Cervices eine östrogenosisabhängige Reduktion des Kollagenabbaus (Wallis und Hillier, 1981).

Untersuchungen an ovariectomierten graviden Ratten ergeben, dass das Gewebe von unbehandelten und östrogenbehandelten Tieren eine hohe optische Doppelbrechung des Kollagens aufweist, welche für ein dichtes und hoch organisiertes Kollagengerüst spricht. Bei mit Relaxin bzw. Relaxin und Östrogen behandelten Ratten nimmt dagegen die Kollagendichte ab (Luque et al., 1998).

Anderen Studien zufolge bewirkt Östradiol-17 β eine Stimulation des Typ-I-Kollagenabbaus in Kulturen von Cervixgewebe nicht-gravider Meerschweinchen. Dies

wird durch eine gesteigerte Kollagenaseproduktion bewirkt (Rajabi et al., 1991a). Allerdings scheint dieser Effekt nur unter pharmakologischen, nicht aber unter physiologischen Bedingungen zu bestehen (Sato et al., 1991).

Eine Wirkung des Östrogens könnte in einer Stimulation der Prostaglandin E₂-Synthese resultieren, welche in Organkulturen des Meerschweinchens zu cervicaler Dilatation und zum Kollagenabbau führt (Rajabi et al., 1991b).

2.6.2 Progesteron

Progesteron wird als C-21-Steroid im *Corpus luteum*, in der Plazenta und zum geringen Teil auch in den Nebennierenrinden produziert (Oettel, 1996).

Unter Progesteroneinfluss wird ein zäher Schleim sezerniert, der den sogenannten Schleimpfropf zum Verschluss der Cervix darstellt. Mit zunehmender Östrogenisierung wird dieser Schleim verflüssigt und dann als Brunstschleim bezeichnet (Liebich, 1993).

Progesteron hat eine blockierende Wirkung auf die myometriale Kontraktilität und den cervicalen Umbau, welche erst mit einem Absinken der Plasmaprogesteronwerte aufgehoben wird. Durch die Verhinderung der Leukozyteninfiltration hat Progesteron einen antiinflammatorischen Effekt. Ein deutlicher Anstieg der eosinophilen Granulozyteninfiltration tritt bei Ratten nach Östradiol-17 β -Behandlung, nicht aber nach einer kombinierten Gabe von Östrogen und Progesteron auf (Luque et al., 1996).

Daher ist anzunehmen, dass Progesteron als ein Inhibitor des Kollagenabbaus und damit den kollagenen Umbaumechanismen im Rahmen der Cervixreifung entgegen wirkt (Luque et al., 1996). An der humanen Cervix führt Progesteron zu einer Hemmung der Kollagenasesynthese (Ellwood et al., 1981; Hillier und Wallis, 1981). Diese Hemmung der Kollagenaseproduktion wird über ein zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP), vermittelt (Koob und Jeffrey, 1980).

An cervicalen Fibroblasten von Kaninchen wird die Inhibition des Kollagenumbaus unter Progesteroneinwirkung durch eine Erhöhung der Produktion von Proteinaseinhibitoren und eine Hemmung der Produktion von Gewebekollagenasen umgesetzt (Sato et al., 1991).

2.6.3 Oxytocin

Oxytocin wird in den Nervenzellen des Hypothalamus gebildet, im Hypophysenhinterlappen in sekretorischen Granula gespeichert und von dort nach neuronaler Stimulation in das systemische Blut abgegeben. Auslösend für diese Freisetzung sind der Saugreiz und eine Stimulation von Dehnungsrezeptoren in Cervix und Vagina (Wuttke, 1997).

Oxytocin beeinflusst den Kollagenmetabolismus. In-vitro-Untersuchungen zufolge wird die Aufnahme der Aminosäure H-Prolin in cervicales Gewebe als ein Indikator für die Kollagensynthese angesehen. Hierbei kann nachgewiesen werden, dass hohe Konzentrationen von Oxytocin in der Frühgravidität die Inkorporation von H-Prolin um 60 % reduzieren und damit die Kollagensynthese hemmen. Dieser Effekt wird verstärkt durch Östradiol-17 β , aber nicht durch den Prostaglandin-Antagonisten Indomethacin. Eine Aufnahme von H-Prolin in glatte Muskelzellen wird nicht ausgeschlossen, dennoch zeigt sich ein deutlicherer Effekt an der Cervix als in vergleichend durchgeführten Untersuchungen an unteren Segmenten des Uterus, die weniger Kollagen enthalten (Wiqvist et al., 1985).

2.6.4 Prostaglandine

Prostaglandine sind Derivate der Arachidonsäure und bestehen aus 20 C-Atomen. Sie haben ein weites Spektrum von biologischen Effekten im Reproduktionstrakt sowie im gastrointestinalen, respiratorischen und kardiovaskulären System (Oesterling et al., 1972). Sie agieren hauptsächlich am Ort ihrer Bildung und Abgabe. Im Fortpflanzungsgeschehen übernehmen sie wichtige Funktionen bei der Ovulation, beim Gametentransport und bei der Steuerung der Uterusmotilität. Die wichtigste Gruppe bei den Haustieren sind die Prostaglandine F, vor allem das Prostaglandin F_{2 α} , welches bei der Luteolyse eine Rolle spielt (Oettel, 1996). Prostaglandine können lokal in der Cervix gebildet werden (Ellwood et al., 1981). Sie sind am Prozess der cervicalen Dilatation und Erweichung beteiligt. Dies wird durch Gabe von Prostaglandin E₂ bei der Frau (Ekman et al., 1980) und bei der Stute (Volkmann et al., 1995) sowie durch Gabe von Prostaglandin E₂ und Prostaglandin F_{2 α} beim Schaf bewirkt (Fitzpatrick und Liggins, 1980).

Ein indirekter Einfluss auf die Cervix kann aufgrund der prostaglandinbedingten Stimulation von Uteruskontraktionen nicht ausgeschlossen werden (Hillier und Wallis, 1981). Nach Bryman et al. (1985) wirkt sich Prostaglandin $F_{2\alpha}$ positiv auf die Uteruskontraktilität aus, nicht aber auf die der Cervix.

In mechanischen Untersuchungen am Cervixgewebe wurde gezeigt, dass nach intravaginaler Applikation von Prostaglandin E ein vierfacher Anstieg der Dehnungsrate eintritt im Vergleich zu Messungen vor der Behandlung (Owiny und Fitzpatrick, 1990).

Bei der humanen unreifen Cervix bewirkt Prostaglandin E_2 zum Geburtszeitpunkt eine Zunahme der Kollagenlöslichkeit und der kollagenolytischen Aktivität sowie eine Reduktion des Gesamtkollagengehaltes (Ekman et al., 1986).

Lokale Prostaglandin E_2 - und $F_{2\alpha}$ - Applikationen führen in histologischen und biochemischen Studien zu keinem Kollagenumbau beim Schaf (Fitzpatrick und Liggins, 1980).

Eine Hemmung der Prostaglandinsynthese durch den Cyclooxygenaseinhibitor Diclofenac bewirkt einen Abfall der löslichen Kollagenkonzentration und einen Anstieg der totalen Kollagenkonzentration (Bienkiewicz, 1995). Hier ist eventuell die Rolle anderer Arachnidonsäuremetaboliten im Bindegewebsumbau mit einzubeziehen (Caprol et al., 1990).

Weiterhin wird Prostaglandinen eine Funktion in Glykosaminoglykan-Kollagen-Interaktionen zugesprochen, die nicht in einer Kollagenauflösung resultieren, sondern in einer Separation des Kollagens (Hillier und Wallis, 1981).

Prostaglandine wirken sich weiterhin auf den Wassergehalt des Kollagens aus. Subkutane Injektionen von Prostaglandin $F_{2\alpha}$, Prostaglandin E und Diclofenac an Ratten ergeben am 21. Tag der Gravidität einen abnehmenden Wassergehalt der Cervix durch PG $F_{2\alpha}$ - Gabe im Vergleich zu Kontrollgruppen (Bienkiewicz, 1995). Anderen In-vitro-Studien zufolge besteht eine positive Korrelation zwischen Prostaglandingabe und dem Wassergehalt der Cervix (Huszar et al., 1986; Owiny und Fitzpatrick, 1990).

2.6.5 Relaxin

Relaxin ist ein Peptidhormon aus 48 Aminosäuren (Schwabe et al., 1977). Die *Cervix uteri* dient als Zielorgan für Relaxin (Porter, 1981), welches im Zusammenspiel mit weiteren Hormonen an den strukturellen, geburtsbedingten Veränderungen der *Cervix uteri* mitwirkt (Hoffmann, 1994). Relaxin fördert die Cervixreifung und Erweichung vor der Geburt sowie die Entwicklung des Gesäuges und inhibiert während der Trächtigkeit uterine Kontraktionen bei der Ratte (Sherwood, 2004).

Tsutsui und Stewart (1991) sehen die Plazenta als Hauptbildungsstätte für Relaxin bei der graviden Hündin. Eine Hysterektomie in der Gravidität führt zum Abfall der Relaxinspiegel im Blut innerhalb von zwei bis drei Tagen, währenddessen eine Ovariectomie keine Veränderungen auslöst. Steinetz et al. (1989) vermuten ebenso eine Beteiligung der Ovarien an der Relaxinbildung bei der trächtigen Hündin.

Bei der Hündin kommt es während der Trächtigkeit zu Relaxinspiegeln von 10 µg/ml im Serum (Klonisch et al., 2001). Nach Produktion in der Plazenta erfolgt ein signifikanter Anstieg am 24. Tag nach der Ovulation. Dies kann zum endokrinologischen Nachweis der Trächtigkeit bei der Hündin dienen (Einspanier et al., 2002).

Relaxin-like Faktor, gebildet beim weiblichen nicht-trächtigen Hund in den *Theca interna* Zellen der Ovarien, Granulosa Zellen des Follikelgewebes sowie im *Corpus luteum* wirkt synergistisch mit Relaxin (Klonisch et al., 2001).

Für eine vollständige Dehnung der Cervix ist die kombinierte Wirkung von Östradiol, Progesteron und Relaxin notwendig, wie in Studien an ovariectomierten Ratten nachgewiesen wurde (Zarrow und Yochim, 1961). Es konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Relaxin nur in Kombination mit Östrogen zu einer massiven Infiltration des cervicalen Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und zum Kollagenabbau führt (Luque et al., 1998).

In der zweiten Hälfte der Gravidität proliferieren Epithelzellen und Stromazellen in der Cervix der Ratte unter Relaxineinfluss. Es kommt zu einer Relaxin-abhängigen Akkumulation von Zellen um Blutgefäße und zu einer Zunahme von einzelnen Fibroblasten bei der Ratte (Burger und Sherwood, 1998).

Eine Relaxinbehandlung bewirkt eine Erhöhung der Kollagenlöslichkeit und des Hyaluronsäuregehaltes. Bei graviditätsbedingtem cervicalem Wachstum nimmt der Kollagengehalt zu, aber die Konzentration an Kollagenen ab (Downing und Sherwood, 1986).

2.7 Klinische Bedeutung der Cervix uteri

2.7.1 Angeborene Missbildungen

Zu den genetisch bedingten Anomalien der Geschlechtsorgane beim Hund zählt das PMDS-Syndrom (persistent Muellerian duct syndrome). Betroffene Tiere haben einen normalen Karyotyp (XY), aber einen Mangel der Androgen-abhängigen Maskulinisierung aufgrund eines fehlenden oder defekten Androgenrezeptors. PMDS kommt gehäuft beim Miniatur Schnauzer vor; die Tiere haben bilateral ausgebildete Hoden und ein komplettes Müllersches-Gang System mit Vagina, Cervix, Uterus und Ovarien (Meyers-Wallen, 1993).

Eine unvollständige Verschmelzung der Müllerschen Gänge kann in einer *Cervix duplex*, als doppelte *Portio vaginalis cervicis* oder als vertikale Spange im Bereich der *Portio vaginalis cervicis* oder als *Vagina subsepta* resultieren (Arnold, 2000).

Missbildungen der caninen *Cervix uteri* treten in geringer Häufigkeit auf, so dass nur selten darüber berichtet wird. Bei einer 6 Monate alten Deutschen Schäferhündin stellte sich als Grund für persistierende Inkontinenz eine urethrale Ektopie verbunden mit einer Cervixanomalie heraus. Die Cervix war nicht palpierbar und zeichnete sich nur durch longitudinal verlaufende Falten aus, sodass Uterus und Vagina ineinander überzugehen schienen. Die verkürzte und erweiterte Urethra mündete direkt vor der Cervix. Durch die Harnblase in die Urethra eingegebenes Kontrastmittel gelangte in Vagina und Uterus. Dies wurde als Hinweis gewertet, dass kein cervicaler Verschluss vorlag (Ladkin, 1979).

2.7.2 Neoplasien

Neoplasien in Cervix und Uterus wurden bei zwei deutschen Schäferhündinnen beschrieben. Im ersten Fall befanden sich solide Tumormassen im caudalen Teil der Cervix und äußerten sich klinisch durch blutigen Vaginalausfluss, der auch nach Ovariohysterektomie persistierte. Bei der zweiten Hündin befanden sich große Tumormassen im *Corpus uteri* und im cranialen Abschnitt der Cervix. Die Tumoren bestanden aus einer soliden Masse mit unregelmäßiger Oberfläche und wurden als Adenocarcinome klassifiziert. Histologisch zeigten sich die Tumorzellen mit großen intrazytoplasmatischen Vakuolen. Informationen zur Metastasierung liegen bei diesen beiden Tieren nicht vor (Vos, 1988).

2.7.3 Vaginocervicaler Prolaps

McNamara et al. (1997) berichten über einen chronischen vaginocervicalen Prolaps bei einer 5 Jahre alten Hündin mit visceraler Inkarzeration. In die Hernie mit einbezogen waren der Uteruskörper, die Harnblase und distale Teile des Colons. Die Therapie dieser seltenen Erkrankung erfolgte durch Ovariohysterektomie, Cystopexie und Colopexie.

2.7.4 Instrumentelle Samenübertragung

Im Rahmen der instrumentellen Besamung der Hündin besteht die Möglichkeit der intravaginalen Deposition von Sperma oder die transcervicale intrauterine Besamungsmethode. Endoskopische Passagen des Cervicalkanals werden angewendet zur künstlichen Besamung, aber auch um Proben für mikrobiologische und zytologische Untersuchungen zu gewinnen (Watts et al., 1997).

Bei der intravaginalen Besamung wird unter digitaler Kontrolle ein Katheter in den cranialen Teil der Vagina eingeführt und das Sperma dort platziert. Es wird vor allem Frischsperma verwendet, da gefrorenes Sperma nur eine eingeschränkte Fähigkeit hat, den Cervixkanal zu passieren (Feldman und Nelson, 2003).

Bessere Befruchtungsraten werden mittels transcervicaler intrauteriner Besamung erzielt, da die canine Cervix als Barriere für intravaginal inseminierte Spermien agiert (Brown, 1992).

Eine mögliche Methode stellt die Verwendung eines gebogenen Metallkatheters dar, der unter transabdominaler Fixation der Cervix in den Uterus eingeführt wird (Andersen, 1975).

Die visuelle Kontrolle ist bei Anwendung eines starren Endoskops möglich. Die besondere Anatomie der Hündin ist bei der Passage der Paracervix zu beachten. Befindet sich das Endoskop an der eigentlichen Cervixöffnung, wird ein Katheter in die Cervix eingeführt und der Samen intrauterin abgesetzt (Feldman und Nelson, 2003). Das Endoskop dient gleichzeitig als mechanische Hilfe, um den Cervixkanal in eine günstige Lage zu schieben (Wilson, 1993).

Eine bessere Übersicht wird durch die Dilatation des *Cavum vaginae* vor der Einführung des Endoskops mit Luft ermöglicht (Watts und Wrights, 1995).

Die transcervicale Besamung mithilfe eines Endoskops unter Verwendung von aufgetautem Tiefgefriersperma führte zu den gleichen bzw. besseren Besamungsergebnissen ohne das Risiko einer Narkose, die mit einer chirurgischen intrauterinen Samendeposition verbunden

ist (Wilson, 2001). Dies belegen auch die Studien von Linde-Forsberg und Forsberg (1989). Sie verglichen die Fertilität nach künstlicher Besamung mit frischem Sperma und aufgetautem Tiefgefriersperma mit der nach natürlicher Bedeckung. Die Insemination von flüssigkonserviertem Sperma erfolgte in den cranialen Teil der Vagina, aufgetautes Tiefgefriersperma wurde mittels transcervicaler Passage direkt in den Uterus eingebracht. Unter Beachtung der Samenqualität und des Deckzeitpunktes betrug die Trächtigkeitsrate 83,8 % bei Verwendung von flüssigkonserviertem Sperma und 69,3 % bei Verwendung von Tiefgefriersperma, wobei die Trächtigkeitsrate bei mehreren Inseminationen anstieg. In einer späteren Studie werden Angaben von 62,3 % und 51,1 % gemacht (Linde-Forsberg und Forsberg, 1993). Die Autoren erklären die bessere Befruchtungsrate durch Verwendung von flüssigkonserviertem Sperma mit dessen längerer Überlebensdauer im weiblichen Genitaltrakt, währenddessen bei Tiefgefriersperma gute Besamungsergebnisse nur bei genauer Deckzeitpunktbestimmung und guter Samenqualität möglich sind. Die Wurfgröße war bei natürlicher Bedeckung um 21,5 % größer als bei artifizieller Besamung. Hier betrug der Unterschied in der Wurfgröße bei Verwendung von flüssigkonserviertem Sperma 23,3 % im Vergleich zu Tiefgefriersperma.

In einer vergleichenden Studie werden Trächtigkeitsraten von 60 % bei Verwendung von Tiefgefriersperma und 100 % bei Verwendung von flüssigkonserviertem Sperma angegeben. Die Qualität des Spermas wurde vorher kontrolliert und die Besamungen jeweils 3 und 5 Tage nach dem LH-Peak vorgenommen (Silva et al., 1996).

Die Zugabe von Prostatasekret zu aufgetautem Tiefgefriersperma erhöhte bei vaginaler Besamung die Trächtigkeitsrate und die Wurfgröße (Nothling und Volkmann, 1993).

3 Material und Methoden

3.1 Probanden

Für die Untersuchungen standen 28 Hündinnen unterschiedlicher Rassen aus dem Klientel sowie klinikseigene Tiere der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Giessen zur Verfügung (Tab. 3.1.1).

Tab. 3.1.1: Rasseverteilung und Alter der für die histologische Untersuchung zur Verfügung stehenden Hündinnen. Das Alter der Tiere wurde entsprechend dem Vorbericht und dem Zahnalter in 3 Kategorien eingeteilt: jung: ≤ 2 Jahre, mittelalt: $> 2 \leq 6$ Jahre, alt : > 6 Jahre

Hund-Nr.	Rasseverteilung	Alterseinteilung
1	Chihuahua - Kreuzung	jung
2	Terrier-Kreuzung	jung
3	Collie-Kreuzung	jung
4	West Highland White Terrier	mittelalt
5	Golden Retriever	mittelalt
6	Pudel	jung
7	Mischling	alt
8	Husky	jung
9	Spitz-Kreuzung	alt
10	Münsterländer	mittelalt
11	Mischling	jung
12	Mischling	jung
13	Beagle	mittelalt
14	West Highland White Terrier- Yorkshire Terrier-Kreuzung	jung
15	Mischling	jung
16	Labrador	mittelalt
17	Mischling	mittelalt

18	Deutscher Schäferhund	mittelalt
19	Mischling	mittelalt
20	Labrador	jung
21	Beagle	mittelalt
22	Beagle	mittelalt
23	Mischling	mittelalt
24	Deutscher Schäferhund-Kreuzung	mittelalt
25	Mischling	mittelalt
26	Mischling	mittelalt
27	Mischling	mittelalt
28	Mischling	mittelalt

3.1.1 Klinische Untersuchung der Hündinnen

Alle Hündinnen wurden einer allgemeinen klinischen Untersuchung unterzogen. Nach Aufnahme des Vorberichts wurden folgende Parameter erfasst: Pflege- und Ernährungszustand, Adspektion der äußeren Schleimhäute, Palpation der Körperlymphknoten, Puls, Atmung, Körperinnentemperatur, Auskultation von Herz und Lunge, Palpation des Abdomens.

Die spezielle gynäkologische Untersuchung umfasste die Adspektion, Palpation und Beurteilung des äußeren Genitales. Es schloss sich eine Vaginoskopie mit exfoliativer vaginalzytologie und eine Blutuntersuchung an.

Bei den Geburtspatienten erfolgte statt der gynäkologischen Untersuchung der geburtshilfliche Untersuchungsgang mit spezieller anamnestischer Fragestellung. Der weiche Geburtsweg wurde digital auf eventuelle Verletzungen und Einengungen oder eingetretene Feten untersucht sowie die Beschaffenheit der vaginalen Schleimhäute beurteilt. Es schloss sich eine Vaginoskopie sowie eine abdominale Röntgenaufnahme und eine ultrasonografische Untersuchung zur Überprüfung der Herzfrequenz der Feten an. Die geburtshilfliche Diagnose umfasste die Beurteilung der Beschaffenheit des Geburtsweges, Zustand und Beschaffenheit der Fruchtblasen, Lage, Stellung, Haltung, Position, Größe und Leben der Feten, Zahl der Feten sowie die Prognose für Muttertier und Feten.

Die Indikation zur *Sectio caesarea* stellte in allen Fällen eine sekundäre Wehenschwäche dar.

3.1.2 Bestimmung des Zyklusstandes

Die Bestimmung des Zyklusstandes erfolgte über die Angaben des Vorberichtes, den Ergebnissen der exfoliativen Vaginalzytologie, der Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Östradiol-17 β und Progesteron und der makroskopischen Beurteilung der Ovarien post operationem.

Entsprechend der Hormonwerte wird eine Einordnung in das jeweilige Zyklusstadium vorgenommen (Tab. 3.1.2).

Tab. 3.1.2: Einteilung des Zyklusstadiums anhand der Hormonwerte (Jones et al., 1973; Bouchard et al., 1991; Concannon, 1993; Weilenmann et al., 1993).

Zyklusstadium	Progesteron	Östradiol-17 β
Proöstrus	< 1 ng/ml, erst am Übergang zum Östrus > 1 ng /ml	Bis zu 90 pg/ml, dann Abfall zum Ende des Proöstrus auf 10-20 pg/ml
Östrus	4,9 \pm 1,0 ng/ml zum Zeitpunkt der Ovulation, dann Anstieg >20 ng/ml	Sinkt auf basale Konzentration: <15 pg/ml
Metöstrus	30-90 pg/ml, dann Abfall	<15 pg/ml
Anöstrus	< 1 ng/ml	< 15 pg/ml

3.1.3 Exfoliative Vaginalzytologie

Der Zyklusverlauf der Hündin und der hormonelle Status spiegeln sich in den oberflächlichen Epithelien der Vaginalschleimhaut wieder. Die Bestimmung der in der Vaginalschleimhaut vorkommenden Zellen dient der Zyklusdetermination. Im Rahmen der exfoliativen Vaginalzytologie wurden Tupferproben aus dem cranialen Drittel des Vaginalkanals entnommen und nach Ausstreichen auf einem Objektträger mit Eosin-Thiazin¹ gefärbt. Die Auswertung und Zykluseinteilung erfolgte anhand der vorhandenen Epithel- und Blutzellen nach von Tammer et al. (1994) beschriebener Methode (Tab. 3.1.3).

Tab. 3.1.3: Bestimmung des Zyklusstadiums anhand des vaginalzytologischen Befundes.

Zyklusstadium	Vaginalzytologischer Befund
Proöstrus	Massenhaft Erythrozyten Zahlreiche kernhaltige Superficialzellen, in geringem Maß Intermediär- und Parabasalzellen, vereinzelt Schollen
Östrus	Wenige bis keine Erythrozyten, viele verhornte Superficialzellen und Superficialzellen mit degeneriertem Kern, Schollen in unterschiedlicher Menge
Metöstrus	Neutrophile Granulozyten, Superficial-, Intermediär- und Parabasalzellen in unterschiedlichen Mengen
Anöstrus	Neutrophile Granulozyten in geringer Menge, keine Superficialzellen, überwiegend Parabasal- und allenfalls kleine Intermediärzellen

¹ Hemacolor®, Merck

3.1.4 Hormonbestimmungen

Zur Objektivierung des Zyklusstandes wurden Plasmaproben entnommen und eine Steroidhormonanalyse durchgeführt. Der endokrinologische Status der Hündinnen ist in Tab. 3.1.4 dargestellt. Die Bestimmung der Progesteronkonzentrationen erfolgte mittels automatischer Chemilumineszenz. Für die vorliegenden Messungen stand das Gerät ACS:180² zur Verfügung. Die Durchführung der Blutuntersuchungen unterlag dem Labor und Personal des Lehrstuhls II für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung der Justus-Liebig-Universität Giessen.

Die Spezifität des ACS:180 Tests ist sehr hoch. Die Kreuzreaktivität mit Deoxycorticosteron lag bei 0,08%, für Corticosteron bei 0,95%, für Pregnenolon bei 0,46% und für 17 α -Hydroxyprogesteron bei 0,31%. Andere Steroidhormone zeigten keine Kreuzreaktivität.

Die Bestimmung von Östrogen-17 β erfolgte mithilfe des Sequenztestes (Hoffmann et al., 1992). Die Zuverlässigkeit wird mithilfe eines Intraassayvariationskoeffizienten zwischen 6,0% und 11,4% (n = 24) und einem Interassayvariationskoeffizienten zwischen 13,1% und 13,2 % (n = 17) angegeben. Die untere Nachweisgrenze lag bei 1,47 pmol/l.

Tab. 3.1.4: Hormonkonzentrationen und makroskopische Befunde an den Geschlechtsorganen. Die Angaben des Operationszeitpunktes in Tagen (d) post ovulationem beruhen auf genauer Kenntnis des Ovulationszeitpunktes.

Hund - Nr.	Progesteron (ng/ml)	Östradiol- 17 β (pg/ml)	Makroskopische Befunde an den Geschlechtsorganen und Angaben zum Sexualzyklus
1	4,5	50,4	Corpora lutea
2	2,2	27,6	ohne Funktionsgebilde
3	27,0	39,6	45 d p. ov.
4	3,9	30	Corpora lutea letzte Läufigkeit 2 Monate ante operationem
5	0,2	25,6	ohne Funktionsgebilde
6	2,0	21,6	Corpora lutea

² Fa. Bayer Diagnostics, Fernwald

7	3,8	17,2	Ovarialzysten
8	3,3	36,8	Corpora lutea
9	1,1		ohne Funktionsgebilde
10	/		Paraovarielle Zyste
11	3,2	6,1	ohne Funktionsgebilde
12	1,3	17,6	ohne Funktionsgebilde letzte Läufigkeit 3 Monate ante operationem
13	9,7	27,4	Corpora lutea
14	8,1	17,9	Corpora lutea letzte Läufigkeit 2 Monate ante operationem
15	2,1	24	Corpora lutea
16	1,7	18,4	Corpora lutea letzte Läufigkeit 2 Monate ante operationem
17	0,3	5,6	10 d p. ov.
18	1,5	28,8	Corpora lutea
19	7,1	16	7 d p. ov.
20	8,1	23	Corpora lutea
21	5,0	21,2	Östrus
22	4,0	49,6	Östrus
23	1,3	17,5	10 d p. ov.
24			intra partum
25			intra partum
26			intra partum
27			intra partum
28			intra partum

3.1.5 Durchführung der Ovariohysterektomie

Nach der klinischen Untersuchung wurde eine Prämedikation mit Diazepam (0,5-1,0 mg/kg, Valium®, La Roche, Mannheim) und l-Methadon (0,25-0,75 mg/kg, l-Polamivet®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) über einen Venenzugang verabreicht und nach Intubation die Narkose mit Sauerstoff/Lachgas und Isofluran aufrechterhalten. Es erfolgte eine Laparotomie in der *Linea alba* und anschließende Vorlagerung des Uterus und der Ovarien. Nach Ligatur auf der Cervix und Ligaturen cranial der Ovarien mit Durchstechung der cranialen Keimdrüsenbänder wurde die Gebärmutter inklusive Ovarien entnommen. Nach Kontrolle auf Nachblutungen wurde der Cervixstumpf ausgeschält und einstülpend vernäht und die Bauchhöhle fortlaufend verschlossen. Es folgten eine Faszienentspannungsnaht, eine fortlaufende Subkutannaht und eine Hautnaht mit Wundabdeckung durch Aluminiumspray.

3.1.6 Durchführung der *Sectio caesarea*

Die Einleitung der Narkose zur *Sectio caesarea* erfolgte mit l-Methadon (0,25-0,75 mg/kg, l-Polamivet®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) intravenös. Zusätzlich wurde eine Lumbosakralanästhesie durchgeführt. Hierzu wurden 0,35-0,5 ml 2%iges Mepivacain (Mepivacain 2%®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) pro 10 cm Scheitel-Steiß-Länge in den Epiduralraum zwischen letztem Lendenwirbel und Kreuzbein bei hochgelagertem Kopf injiziert. Die Tiere wurden intubiert und erhielten Sauerstoff bis zur Zugabe von Isofluran (Isoflo®, Essex Pharma GmbH, München) zur Narkoseerhaltung nach Entwicklung der Welpen.

Nach Laparotomie erfolgte die Vorlagerung und Eröffnung des Uterus an der großen Curvatur nahe der *Bifurcatio uteri* und die Entwicklung der Welpen. Die Bauchdecke wurde vor Kontamination mit Uterusinhalt durch Abdeckung mit Tüchern geschützt. Bei leicht zu lösender Plazenta wurden die Fruchthüllen entfernt. Es folgte die Amputation des Uterus und der Ovarien. Das weitere Verfahren entsprach dem der Ovariohysterektomie.

3.1.7 Gewebeentnahme

Nach der Ovariohysterektomie erfolgte eine makroskopische Beurteilung der in toto entnommenen Uteri und Ovarien. Der Uterus wurde auf eventuelle Flüssigkeit im Uteruslumen und auf Veränderungen in der Uterusschleimhaut kontrolliert und die Ovarien auf Funktionsgebilde untersucht. Anschließend wurde die Cervix separiert und die Größe des Gewebes vermessen.

3.2 Bearbeitung der Cervixgewebeproben

3.2.1 Probenaufbereitung und Fixierung

Das Cervixgewebe wurde über 24 Stunden bei 4°C in Formol nach Lillie (1976) fixiert. Anschließend erfolgte eine Längsteilung sowie anhand des makroskopischen Bildes eine Teilung der Hälften in einen cranialen, mittleren und caudalen Abschnitt. Die Proben wurden in Formol nach Lillie (1976) für weitere 24 Stunden nachfixiert. Für die Aufbewahrung der Proben wurde gepufferte Phosphatlösung verwendet.

3.2.2 Paraffineinbettung

Die Entwässerung und Paraffineinbettung wurde unter Verwendung eines Einbettautomaten in dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie der Justus-Liebig-Universität Giessen durchgeführt (Tab. 3.2.1).

Tab 3.2.1.: Protokoll zur Einbettung der Gewebeproben.

Isopropanol	70 %	Raumtemperatur	15 min
Isopropanol	80 %	Raumtemperatur	15 min
Isopropanol	96 %	Raumtemperatur	15 min
Isopropanol	100 %	Raumtemperatur	15 min
Isopropanol	100 %	Raumtemperatur	15 min
Xylol		Raumtemperatur	15 min
Xylol		Raumtemperatur	15 min
Paraffin ³		60 ° C	15 min
Paraffin		60 ° C	15 min
Paraffin		60 ° C	15 min

3.2.3 Herstellung der histologischen Schnitte

Für die Herstellung der mikroskopischen Schnitte wurde ein Rotationsmikrotom⁴ verwendet. Die in Paraffin eingebetteten Gewebestücke wurden bei Raumtemperatur mit Einmalklingen in 7 µm dicke Scheiben geschnitten. Zuvor wurden die Paraffinblöcke auf einer Kühlplatte gekühlt, um eine bessere Schneidbarkeit zu erreichen. Nach dem Schneiden wurden die Schnitte in ein mit 38° warmem *Aqua destillata*⁵ (*Aqua dest.*) gefülltes Wasserbad zur Streckung und Glättung überführt. Anschließend wurden die Schnitte 40 Minuten im Wärmeschränk bei 38° Celcius getrocknet (Abb. 3.2.1).

Um eine bessere Haftung zu erreichen, wurden zum Aufziehen der Schnitte mit APES⁶ (3-Aminopropyltriethoxysilan) beschichtete Objektträger⁷ verwendet. Dazu wurden vorgereinigte Objektträger 20 Sekunden in eine 2%ige APES-Lösung getaucht sowie jeweils zweimal in Aceton reinst und in *Aqua dest.* gespült. Die Objektträger wurden in offenen Glasküvetten unter dem Abzug getrocknet und in geschlossenen Gefäßen staubarm bei Raumtemperatur gelagert.

³ Paraffin der Firma Vogel, Histo-Comp® 56 °, Best-Nr. Vo-5-1002.

⁴ Reichert Jung 2030 MOT

⁵ Millipor-Anlage, Milli Q Biocel

⁶ Merck, Darmstadt

⁷ Objektträger 46x26mm, geputzt, gebrauchsfertig, Fa. Kniffel

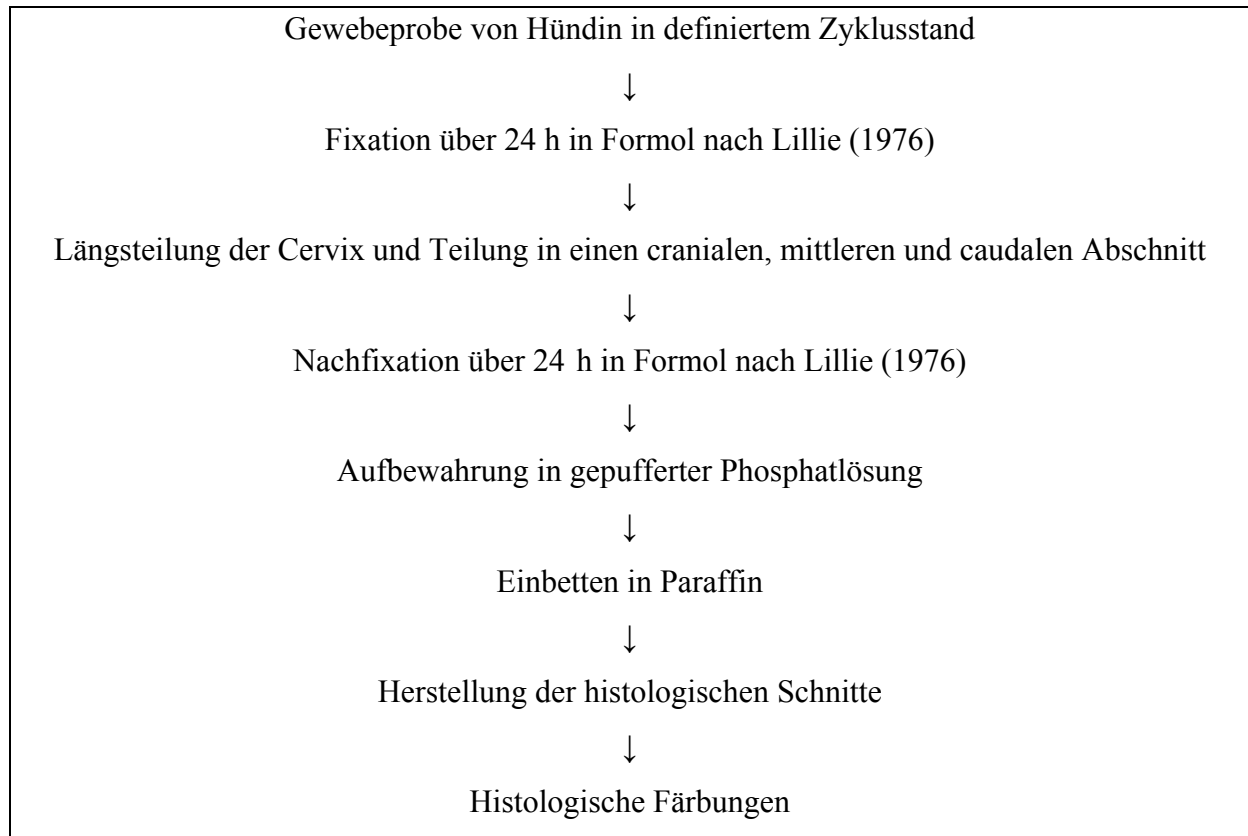


Abb. 3.2.1: Schematische Darstellung der Probenbearbeitung.

3.2.4 Färbungen

Es wurden folgende Färbungen durchgeführt:

Hämatoxilin-Eosin-Färbung:	Übersichtsbetrachtung (Romeis, 1989)
Toluidin-Blau-Färbung:	selektive Anfärbung der Mastzellen (Romeis, 1989)
Giemsa-Färbung	selektive Anfärbung der eosinophilen Granulozyten (Osbaldeston, 1978)
Resorcin-Fuchsin-Färbung:	Darstellung der elastischen Fasern (Romeis, 1989)

Es werden pro Cervixregion und pro Färbung 3 Schnitte verwendet. Nachfolgend sind die Färbeprotokolle dargestellt. Die Zusammensetzungen der verwendeten Lösungen finden sich im Anhang.

3.2.5 Färbeprotokolle

Die Protokolle der eingesetzten Färbungen sind in den Tabellen 3.2.2, 3.2.3, 3.2.4 und 3.2.5 dargestellt.

Tab. 3.2.2: Durchführung der Hämatoxilin-Eosin Färbung.

Xylol	5 min
Xylol	5 min
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 80%	20 x tauchen
Ethanol 70%	20 x tauchen
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
Hämatoxilin nach Mayer	1 min
Bläuen in fließend warmem Leitungswasser	1 min
<i>Aqua dest.</i>	Kurz
Ethanol 70%	20 x tauchen
Ethanol 80%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Eosin, alkoholisch	30 sec
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Xylol	5 min
Xylol	5 min

Anschließend erfolgte das Eindecken der Schnitte mit Roti®-Histokitt (Carl Roth GmbH) unter Verwendung von Glasdeckgläschen (Menzel Gläser 24 x 50 mm LOT 0040484).

Tab. 3.2.3: Durchführung der Toluidin-Blau-Färbung.

Xylol	5 min
Xylol	5 min
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 80%	20 x tauchen
Ethanol 70%	20 x tauchen
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
Toluidin-Blau-Lsg.	60 min
<i>Aqua dest.</i>	Kurz
Ethanol 96%	5 x tauchen
Ethanol 100%	5 x tauchen
Xylol	2 x tauchen

Das Eindecken erfolgte wie oben beschrieben.

Tab. 3.2.4: Durchführung der Giemsa-Färbung.

Xylol	5 min
Xylol	5 min
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 80%	20 x tauchen
Ethanol 70%	20 x tauchen
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
Giemsa-Färbelsg.	20 min
Essigsäure 1 %	3 x tauchen
Ethanol 96%	3 x tauchen
Isopropanol	5 x tauchen
Isopropanol	1 min

Das Eindecken erfolgte wie auf S. 38 beschrieben.

Tab. 3.2.5: Durchführung der Resorcin-Fuchsin-Färbung.

Xylol	5 min
Xylol	5 min
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 80%	20 x tauchen
Resorcin-Fuchsin	30 min
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
Kernechtrot	5 min
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
<i>Aqua dest.</i>	20 x tauchen
Ethanol 80%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 96%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Ethanol 100%	20 x tauchen
Xylol	5 min
Xylol	5 min

Das Eindecken erfolgte wie auf S. 38 beschrieben.

3.3 Auswertung der histologischen Schnitte

Für den cranialen, mittleren und caudalen Abschnitt der Cervix wurden jeweils 3 Schnitte in die Auswertung einbezogen (Abb. 3.3.1).

Pro Gewebeschnitt wurden 10 Gesichtsfelder mit je 10 Messungen ausgewertet. Die Auswertungen erfolgten in 400facher Vergrößerung. Die Messung der Breite des Bindegewebes wurde bei 2,5-facher Vergrößerung durchgeführt.

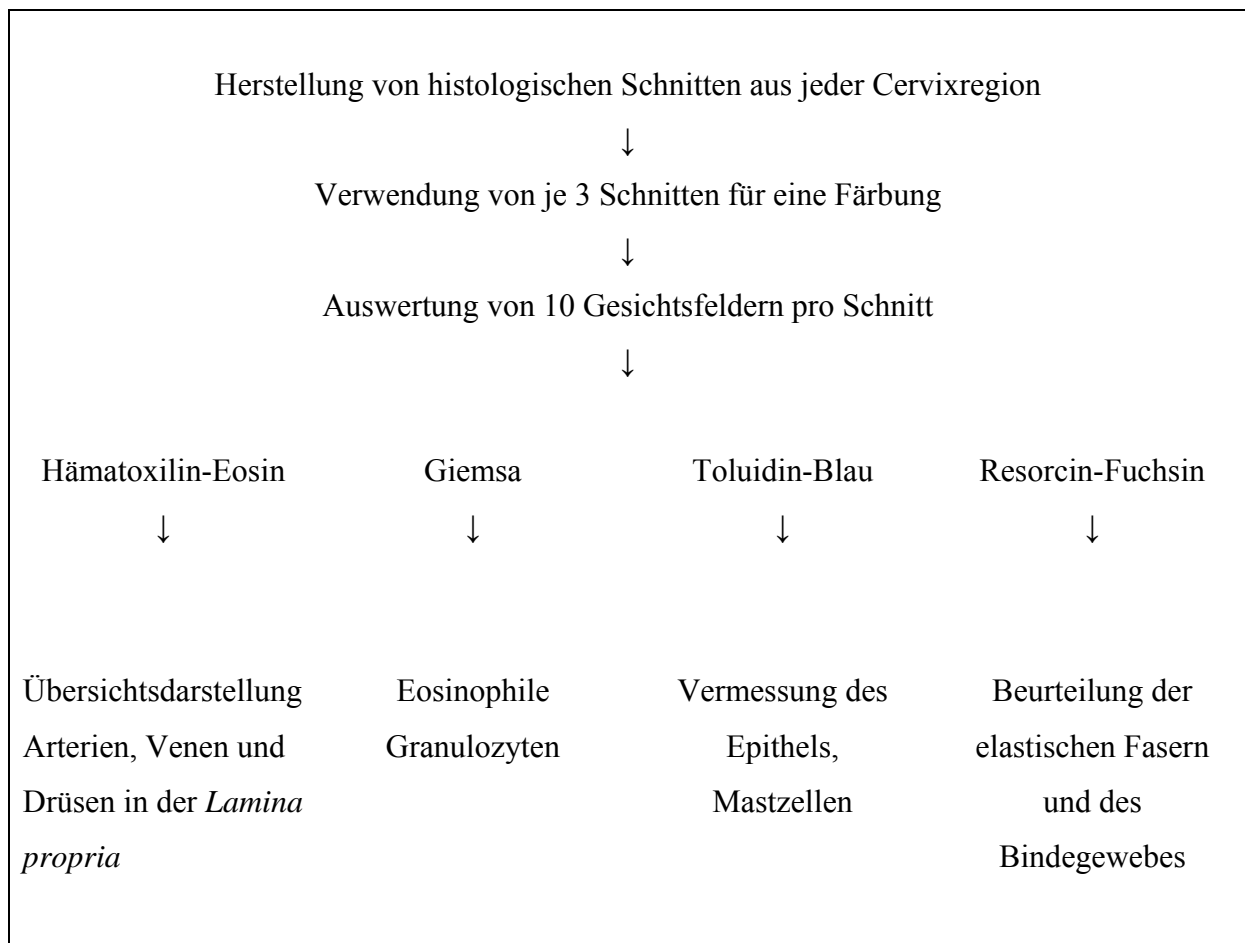


Abb. 3.3.1: Schematische Darstellung der Arbeitsschritte im Rahmen der histologischen Untersuchungen.

Folgende Parameter wurden erhoben:

1. Epithelhöhe
2. Anzahl der Epithelschichten
3. Dichte (pro mm²) und Fläche der Drüsen
4. Dichte (pro mm²) und Fläche der Arterien und Venen
5. Dichte (pro mm²) der eosinophilen Granulozyten
6. Dichte (pro mm²) der Mastzellen
7. Breite der Bindegewebsschicht (*Lamina propria*)
8. Aufgelockertheit des Bindegewebes sowie Ausdehnung, Struktur und Verteilung der elastischen Fasern

Für die histologischen Untersuchungen wurde ein Lichtmikroskop (DMR) in Verbindung mit einer Digitalkamera (DC 300) und dem Bildanalyseprogramm (Leica Image Manager, Leica, Wetzlar) in Zusammenhang mit einem PC (GX 240, Dell) verwendet.

3.4 Statistische Verfahren

Die Datenauswertung erfolgte mit Unterstützung der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität Giessen unter Verwendung des Statistikprogrammsystems BMDP3S (Dixon, 1993).

Zur Datenbeschreibung wurde die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes (\bar{x}_a) und der Standardabweichung (SD) verwendet. Lag keine Normalverteilung vor, wurden die Daten logarithmisch transformiert und der geometrische Mittelwert (\bar{x}_g) und der Streufaktor (SF) errechnet. Dies war bei folgenden Parametern nötig: Cervixepithelhöhe, Fläche der Drüsen, Venen, Arterien und Gesamtfläche der Gefäße, Dichte der Drüsen, Arterien, Mastzellen und eosinophilen Granulozyten sowie prozentuale Fläche der Drüsen, Venen, Arterien und Gesamtfläche der Gefäße.

Innerhalb der Gruppe der ingraviden Tiere erfolgte eine Überprüfung, ob die erhobenen Parameter eine Beeinflussung durch die Lokalisation innerhalb des Cervixkanals (craniales, mittleres, caudales Drittel) sowie durch die peripheren Steroidhormonkonzentrationen (Östradiol-17 β , Progesteron) oder durch den Östradiol-Progesteronquotienten erfahren.

Die Fragestellungen wurden anhand folgender statistischer Verfahren beantwortet.

Bei den nichtträchtigen Tieren (Gruppe 1) wurde mithilfe einer multifaktoriellen Regressionsanalyse und eines Scatterplots überprüft, ob die Hormonwerte einen Einfluss auf die in der mittleren Region der Cervix erhobenen Parameter ausüben. Dafür ergab sich die Notwendigkeit, da die mittlere Region als repräsentativ für das Cervixgewebe angesehen wurde und hier die meisten Daten vorlagen.

Eine differente Betrachtung der Beeinflussung der Parameter an den drei verschiedenen Regionen durch die Steroidhormonkonzentrationen erfolgte durch eine einfaktorielle Kovarianzanalyse.

Ein statistischer Vergleich der Parameter beider Gruppen miteinander (ingravide Hündinnen / Hündinnen intra partum) erfolgte aufgrund der geringen Anzahl der Tiere intra partum nicht.

Die angegebenen Tierzahlen unterliegen leichten Schwankungen, da bei den jeweiligen Parametern nur diese Proben in die Untersuchung einbezogen wurden, die keine Beschädigungen der Gewebearchitektur aufwiesen und dem entsprechenden Cervixkompartiment eindeutig zuzuordnen waren.

4 Ergebnisse

4.1 Allgemeine histologische Beschreibung

Für die histologische Untersuchung standen Gewebeproben aus drei verschiedenen Regionen der caninen Cervix entlang der Längsachse des Organs zur Verfügung. Die Gewebestruktur zeigte den typischen Schichtenaufbau der Cervix mit oberflächlichem Epithel, der darunter liegenden *Lamina propria* mit darin enthaltenen Drüsen und Gefäßen und der sich anschließenden *Tunica muscularis*. Histologisch zeigten sich keine Hinweise auf entzündliche Prozesse, sodass zusammen mit den makroskopischen und klinischen Befunden vor der Operation von geschlechtsgesunden Tieren ausgegangen werden konnte.

4.2 Morphologie des Epithels

Das Cervixepithel unterschied sich deutlich von Uterus und Vagina (Abb. 4.2.1). Es stellte sich in der Regel zweischichtig dar. Der Übergang vom Vaginalepithel zur Cervix stellte sich in den meisten Fällen fließend dar. (Abb. 4.2.2). Im Übergang zum Uterus wurden die Zellen zunehmend hochprismatisch (Abb. 4.2.3). Eine Faltenbildung des Cervixepithels ließ sich in 54 % der Fälle erkennen.

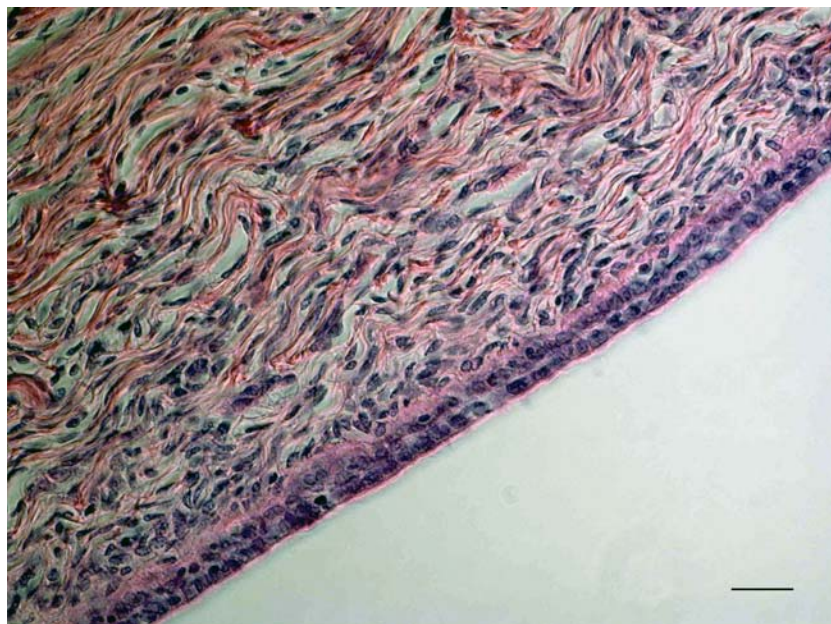


Abb. 4.2.1: Canines Cervixepithel in der Ingravidität, dargestellt ist die Zweischichtigkeit des Cervixepithels (H.E.-Färbung, Balkenlänge: 20 µm).

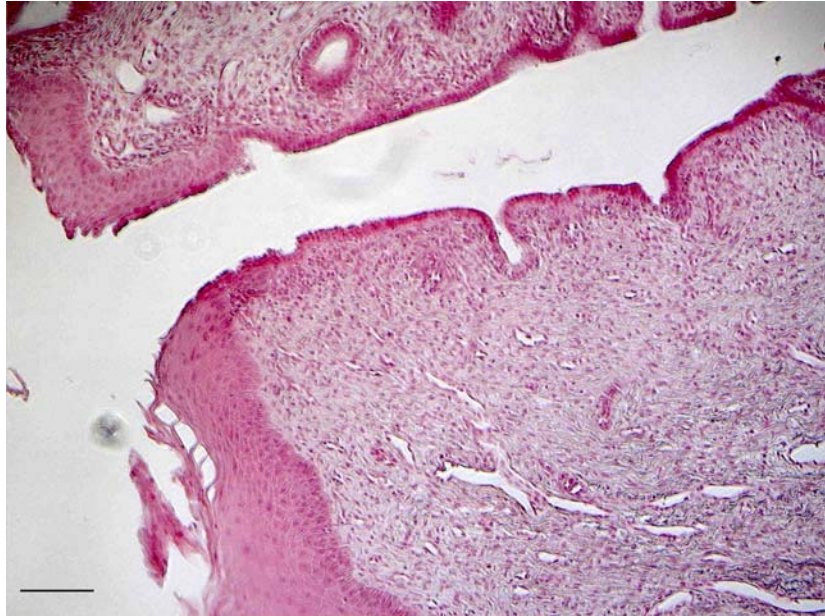


Abb. 4.2.2: Übergang des vaginalen mehrschichtigen Epithels zu einschichtigem Epithel der Cervix bei einer Hündin im Östrus (H.E.-Färbung, Balkenlänge: 100 μm).

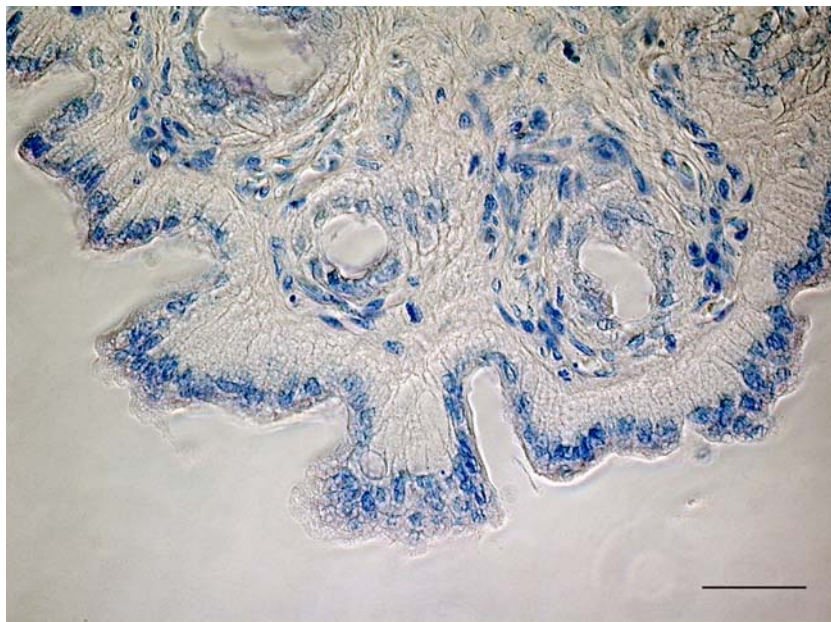


Abb. 4.2.3: Uterusepithel einer ingraviden Hündin, Darstellung des hochprismatischen Epithels mit randständigen Zellkernen (Toluidinblau-Färbung, Balkenlänge: 20 μm).

In der Gruppe der Tiere intra partum ließ sich nur bei vier von fünf Hündinnen ein intaktes Oberflächenepithel darstellen, welches aber nicht durchgehend unversehrt war; bei einer Hündin war das Cervixepithel aufgrund der mechanischen Beanspruchung durch die Geburt nicht zu beurteilen (Abb. 4.2.4).

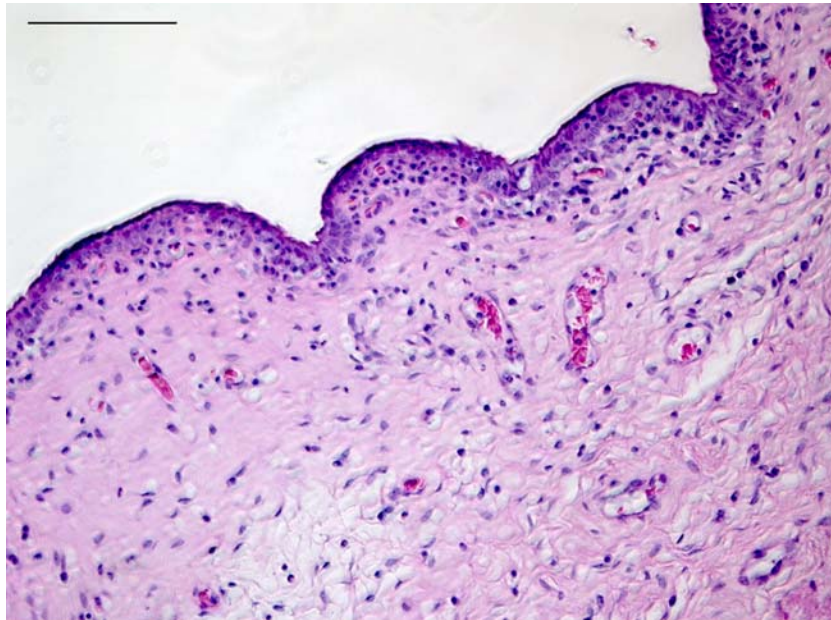


Abb. 4.2.4: Cervixepithel, dargestellt bei einer Hündin intra partum. Deutlich erkennbar sind dilatierte Blutgefäße in der Bindegewebsschicht (H.E., Balkenlänge 100 μm).

Eine Zilienbesetzung des Epithels ließ sich darstellen, jedoch konnte die Ausbildung von Zilien auf dem Epithel nur an einzelnen Lokalisationen gefunden werden und nicht entlang des gesamten *Canalis cervicis*. Der Nachweis von Zilien erfolgte bei 13,8 % der ingraviden Hündinnen.

Die durchschnittliche Epithelhöhe in der Gruppe der nicht trächtigen Hündinnen betrug im cranialen Abschnitt 18,37 μm , im mittleren Abschnitt 22,07 μm und im caudalen Abschnitt 23,9 μm (Tab. 4.2.1, Abb. 4.2.5). Obwohl eine Zunahme der Epithelhöhe von cranial nach caudal zu verzeichnen war, stellte sich der Unterschied zwischen den einzelnen Lokalisationen als nicht signifikant heraus ($p = 0,0785$).

Der Einfluss der Konzentrationen von Progesteron ($p = 0,37$; $r = 0,295$), Östradiol-17 β ($p = 0,8$; $r = 0,159$) und des Östradiol-Progesteronquotienten ($p = 0,415$; $r = -0,205$) auf die Epithelhöhe erwies sich als nicht signifikant.

Tab. 4.2.1: Höhe des Epithels in der caninen Cervix bei ingraviden Hündinnen in μm , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Die regionalen Unterschiede stellten sich nicht signifikant dar ($p = 0,0785$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	11	18,4	2,9	5,1 - 165,9
Region 2	22	22,1	2,6	7,8 - 208,6
Region 3	22	23,9	2,8	7,1 - 268,4

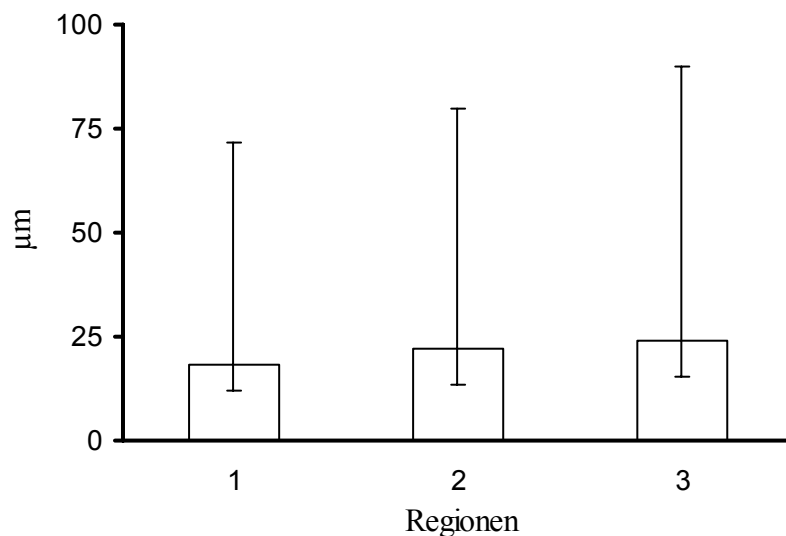


Abb. 4.2.5: Graphische Darstellung der Epithelhöhe in der cranialen (1), mittleren (2) und caudalen (3) Cervixregion bei ingraviden Hündinnen, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Differenzen zwischen den einzelnen Regionen erwiesen sich als statistisch nicht signifikant ($p = 0,0785$).

In der Gruppe 2 konnte in der uterusnahen Region aufgrund der mechanischen Beanspruchung durch die Geburt, die zu Epithelablösungen und Blutungen führte, das Epithel nicht vermessen werden. Es stellte sich in der mittleren Region eine durchschnittliche Epithelhöhe von 17,5 μm und in der caudalen Region von 12,98 μm heraus (Tab. 4.2.2; Abb. 4.2.6).

Tab. 4.2.2: Höhe des Epithels in der caninen Cervix bei Hündinnen intra partum in μm , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region 1	2	nicht auswertbar		
Region 2	5	17,5	1,3	12,6 - 21,7
Region 3	1	12,98	0	0

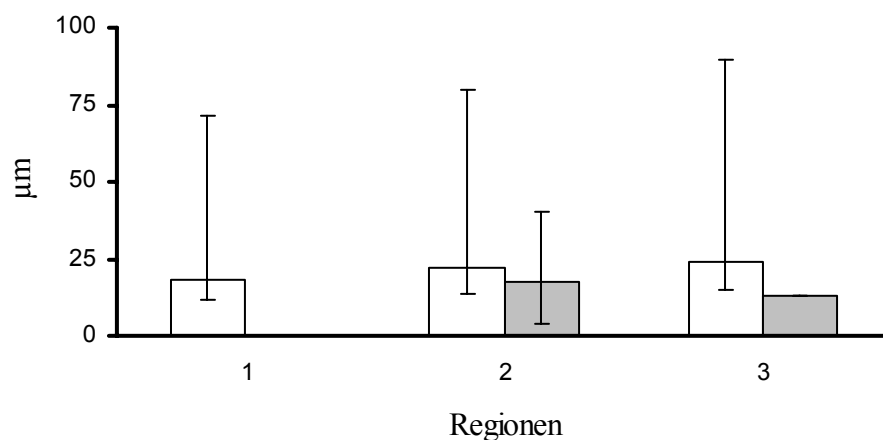


Abb. 4.2.6: Vergleichende Darstellung der cervicalen Epithelhöhe bei ingraviden Hündinnen (weiß) und Tieren intra partum (grau), dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Die Anzahl der Epithelschichten in Gruppe 1 unterschied sich in den einzelnen Regionen, wobei eine Zunahme von cranial nach caudal zu verzeichnen war. Im cranialen Drittel der Cervix war das Epithel meist einschichtig, selten zweischichtig, im mittleren Abschnitt nahm es zunehmend zwei Schichten an und caudal stellte es sich zwei- bis mehrschichtig dar (Tab. 4.2.3).

Tab. 4.2.3: Anzahl der cervicalen Epithelzellschichten bei ingraviden Hündinnen, angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite. 1 = einschichtig, 2 = zweischichtig, 3 = ein- bis zweischichtig, 4 = zwei - bis mehrschichtig, 5 = mehrschichtig
Die Unterschiede zwischen den Regionen waren statistisch signifikant ($p = 0,0001$).

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Region1	16	1,88	1,45	1 - 5
Region 2	22	3,14	1,39	1 - 5
Region 3	23	3,83	1,15	1 - 5

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Regionen stellten sich in Gruppe 1 hoch signifikant dar ($p = 0,0001$).

Ein Einfluss der Konzentrationen von Östradiol-17 β ($p = 0,19$; $r = -0,207$), Progesteron ($p = 0,15$; $r = 0,25$) oder dem Östradiol-Progesteronquotienten ($p = 0,116$; $r = -0,383$) ließ sich nicht nachweisen.

Bei Tieren intra partum war ebenso eine Zunahme der Epithelzellschichten von cranial nach caudal zu verzeichnen. Es stellte sich cranial als einschichtig, im mittleren Drittel der Cervix als meist zweischichtig und caudal als mehrschichtig dar (Tab. 4.2.4).

Tab. 4.2.4: Anzahl der cervicalen Epithelzellschichten bei Hündinnen intra partum, angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite. 1 = einschichtig, 2 = zweischichtig, 3 = ein- bis zweischichtig, 4 = zwei - bis mehrschichtig, 5 = mehrschichtig

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Region1	2	nicht auswertbar		
Region 2	5	2,8	1,3	1 - 4
Region 3	2	5	0	-

Unter der Geburt zeigte sich eine Verringerung der Anzahl der Epithelzellschichten in der cranialen und mittleren Region sowie eine Erhöhung der Epithelzellschichten in der caudalen Region (Abb. 4.2.7).

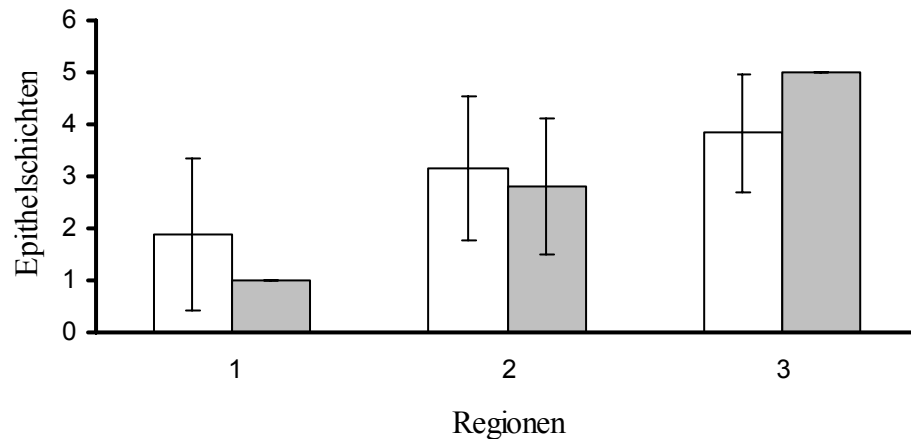


Abb. 4.2.7: Anzahl der cervicalen Epithelzellschichten bei ingraviden Hündinnen (weiß) und Hündinnen intra partum (grau), dargestellt als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD).
1 = einschichtig, 2 = zweischichtig, 3 = ein- bis zweischichtig, 4 = zwei - bis mehrschichtig, 5 = mehrschichtig

4.3 Bindegewebsschicht

Die *Lamina propria* setzte sich aus einem faserhaltigen Bindegewebe zusammen, welches von elastischen Fasern durchzogen war (Abb. 4.3.1). Teilweise reichten die elastischen Fasern bis an das Epithel heran und wurden lumenfern kräftiger.

Zur Erfassung der Bindegewebshöhe wurde der Abstand vom Epithel bis zur *Tunica muscularis* vermessen.

In der Gruppe der ingraviden Hündinnen betrug die durchschnittliche Bindegewebshöhe in der cranialen Region 858,16 μm , in der mittleren Region 645,11 μm und in der caudalen Region 631,33 μm (Tab. 4.3.1, Abb. 4.3.2). Die Unterschiede in der Bindegewebshöhe zwischen den einzelnen Regionen waren knapp nicht signifikant ($p = 0,0542$).

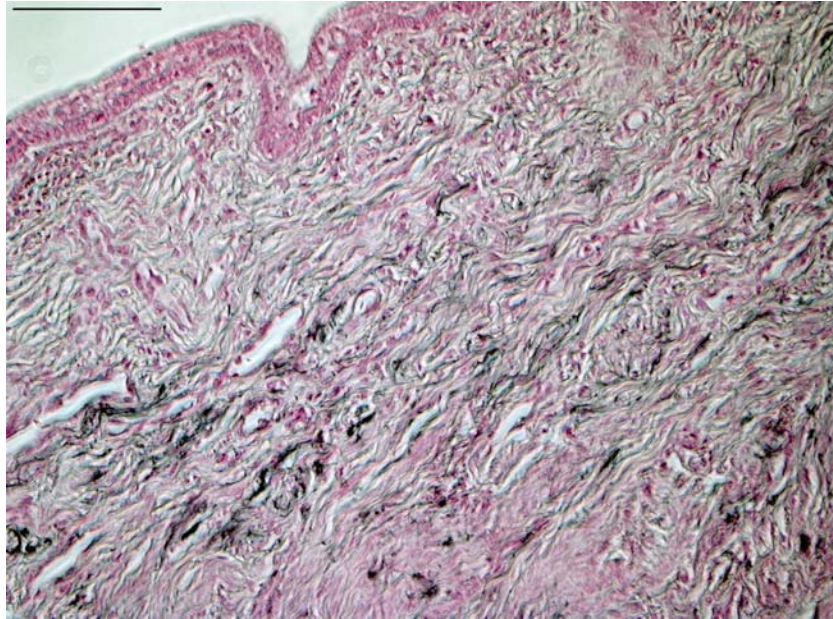


Abb. 4.3.1: Bindegewebsschicht der caninen Cervix mit elastischen Fasern, die sich dunkel darstellen (Resorcin-Fuchsin-Färbung, Balkenlänge: 20 μm).

Tab. 4.3.1: Bindegewebshöhe in der caninen Cervix bei nicht trächtigen Hündinnen in μm , angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite. Die Unterschiede zwischen den Regionen erwiesen sich als statistisch nicht signifikant ($p = 0,0542$).

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Region1	16	858,2	334,1	142,9 - 1345,3
Region 2	22	645,1	399,4	48,1 - 1452,3
Region 3	23	631,3	250,4	47,2 - 1100,5

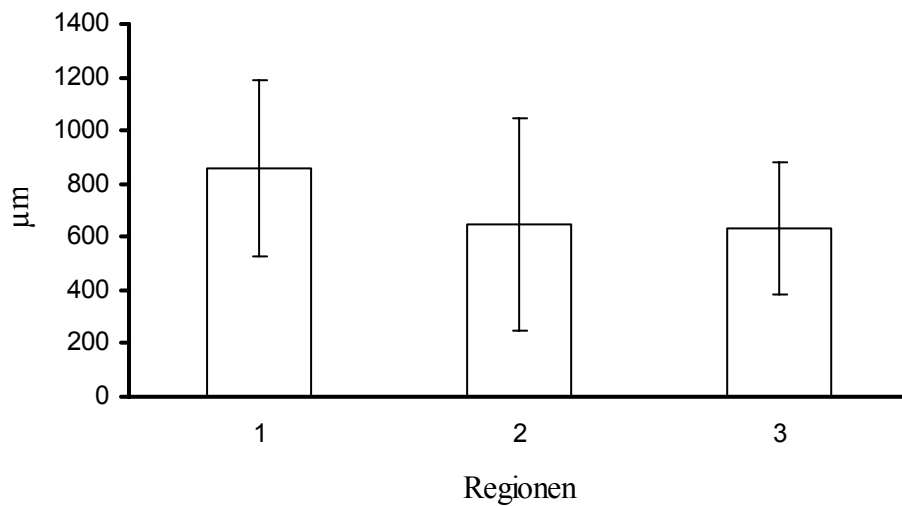


Abb. 4.3.2: Cervicale Bindegewebshöhe bei ingraviden Hündinnen, dargestellt als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD). Die regionalen Unterschiede waren statistisch nicht signifikant ($p = 0,0542$).

Die Steroidhormonkonzentrationen nahmen keinen signifikanten Einfluss auf die Bindegewebshöhe der Cervixwand bei ingraviden Hündinnen (Östradiol-17 β : $p = 0,33$; $r = 0,207$; Progesteron: $p = 0,52$; $r = -0,162$; Östradiol-Progesteronquotient: $p = 0,449$; $r = 0,191$).

Die Bindegewebshöhe bei Tieren intra partum betrug im cranialen Drittel 646,38 μm , im mittleren Drittel 1125,5 μm und im caudalen Drittel 605,12 μm (Tab. 4.3.2, Abb. 4.3.3). Eine abnehmende Höhe des Bindegewebes entlang der Longitudinalachse war damit in Gruppe 2 nicht zu beobachten. In der Gruppe der Geburtstiere zeigte sich in der cranialen und caudalen Region eine Verringerung und in der mittleren Region eine Verbreiterung der Bindegewebsschicht (Abb. 4.3.4).

Tab. 4.3.2: Bindegewebshöhe in der caninen Cervix bei Hündinnen in der Geburt in μm , angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Region1	1	646,4	0	-
Region 2	4	1125,5	268,6	836,8 - 1481,4
Region 3	2	605,2	43,3	574,5 - 635,8

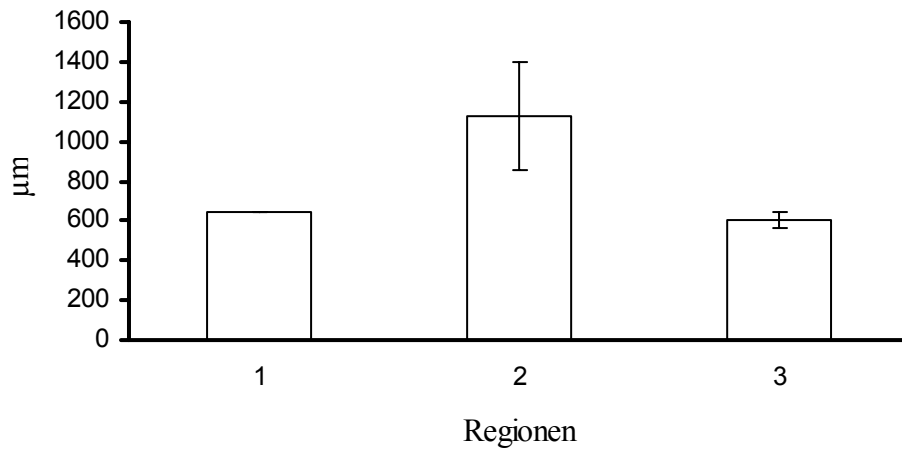


Abb. 4.3.3: Cervicale Bindegewebshöhe bei Hündinnen in der Geburt, dargestellt als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD).

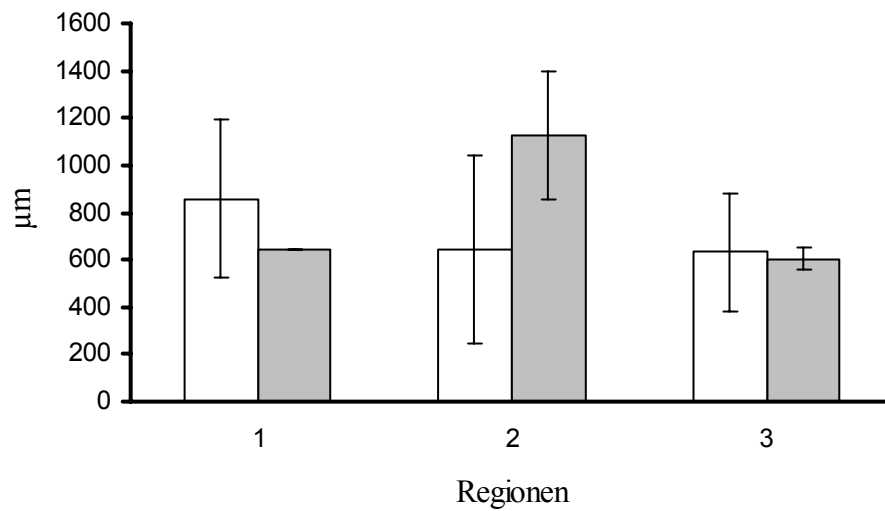


Abb. 4.3.4: Vergleich der Bindegewebshöhe in der Cervix zwischen ingraviden Hündinnen (weiß) und Hündinnen intra partum (grau), dargestellt als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD).

Weiterhin erfolgte eine Beschreibung von Eigenschaften, die das Bindegewebe charakterisieren (Tab. 4.3.3).

Statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den verschiedenen Regionen ergaben sich nicht ($p > 0,05$ für jeden der unten aufgeführten Parameter), sodass sich in der Gruppe der ingraviden Hündinnen die erhobenen Befunde wie folgt darstellten:

- Es konnte eine mittelgradige Aufgelockertheit des Bindegewebes beobachtet werden.
- Die Ausdehnung der elastischen Fasern reichte nur in einem Teil der Fälle bis an das Epithel.
- Die Struktur der elastischen Fasern war in der cranialen Region fein und wurde nach caudal etwas kräftiger.
- Das Vorkommen der elastischen Fasern war in allen Regionen lumenfern zunehmend oder gleichmäßig.

Eine hormonelle Beeinflussung ließ sich für die oben aufgeführten Parameter ebenfalls nicht nachweisen ($p > 0,05$).

In der Gruppe der Geburtstiere stellten sich die erhobenen Parameter folgendermaßen dar (Tab. 4.3.4):

- Das Bindegewebe war in der cranialen Region aufgelockert und verdichtete sich nach caudal zunehmend.
- Die elastischen Fasern reichten in einigen Fällen bis an das Epithel, teilweise waren sie erst in tieferen Bindegewebsschichten zu finden.
- Die elastischen Fasern waren in der cranialen Region fein und nahmen im mittleren und caudalen Cervixdrittel in ihrer Stärke zu.
- Die Verteilung der elastischen Fasern innerhalb der Bindegewebsschicht war in allen Regionen gleichmäßig.

Tab. 4.3.3: Beschreibung des cervicalen Bindegewebes bei ingraviden Hündinnen, angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Regionen konnten nicht gezeigt werden.

Aufgelockertheit: 1 = vorhanden

2 = nicht vorhanden

Ausdehnung der elastischen Fasern: 1 = reichen bis an das Epithel

2 = reichen nicht bis an das Epithel

Struktur der elastischen Fasern: 1 = fein

2 = kräftig

Verteilung der elastischen Fasern: 1 = lumennah

2 = lumenfern

3 = gleichmäßig

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Aufgelockertheit				
Region1	18	1,5	0,5	1 - 2
Region 2	23	1,4	0,5	1 - 2
Region 3	23	1,6	0,5	1 - 2
Ausdehnung der elastischen Fasern				
Region1	15	1,5	0,5	1 - 2
Region 2	22	1,5	0,5	1 - 2
Region 3	23	1,4	0,5	1 - 2
Struktur der elastischen Fasern				
Region1	17	1,1	0,2	1 - 2
Region 2	22	1,2	0,4	1 - 2
Region 3	23	1,3	0,5	1 - 2
Verteilung der elastischen Fasern				
Region1	17	2,8	0,4	2 - 3
Region 2	22	2,8	0,4	2 - 3
Region 3	23	2,6	0,5	2 - 3

Tab. 4.3.4: Beschreibung des cervicalen Bindegewebes bei Hündinnen in der Geburt, angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite.

Aufgelockertheit:	1 = vorhanden 2 = nicht vorhanden
Ausdehnung der elastischen Fasern:	1 = reichen bis an das Epithel 2 = reichen nicht bis an das Epithel
Struktur der elastischen Fasern:	1 = fein 2 = kräftig
Verteilung der elastischen Fasern:	1 = lumennah 2 = lumenfern 3 = gleichmäßig

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Aufgelockertheit				
Region1	2	1	0	-
Region 2	5	1,4	0,6	1 - 2
Region 3	2	1,5	0,7	1 - 2
Ausdehnung der elastischen Fasern				
Region1	2	1,5	0,7	1 - 2
Region 2	5	1,2	0,5	1 - 2
Region 3	2	1,5	0,7	1 - 2
Struktur der elastischen Fasern				
Region1	2	1	0	-
Region 2	5	1,6	0,6	1 - 2
Region 3	2	1,5	0,7	1 - 2
Verteilung der elastischen Fasern				
Region1	2	3	0	-
Region 2	5	3	0	-
Region 3	2	3	0	-

4.4 Drüsen

Die cervicalen Drüsen stellten sich schlauchförmig bis rundlich dar. Sie wurden in allen Abschnitten der Cervix bei 84 % der ingraviden Hündinnen nachgewiesen und befanden sich verteilt im Bindegewebe. In einigen Fällen erreichten sie das Epithel und öffneten sich in das Lumen (Abb. 4.4.1, Abb. 4.4.2). Bei 40 % der Geburtstiere konnten ebenfalls Drüsen beobachtet werden.

In Gruppe 1 betrug die mittlere Fläche einer Drüse $2909,34 \mu\text{m}^2$ in Region 1, $2644,23 \mu\text{m}^2$ in Region 2 und $2294,03 \mu\text{m}^2$ in Region 3 (Tab. 4.4.1, Abb. 4.4.3).

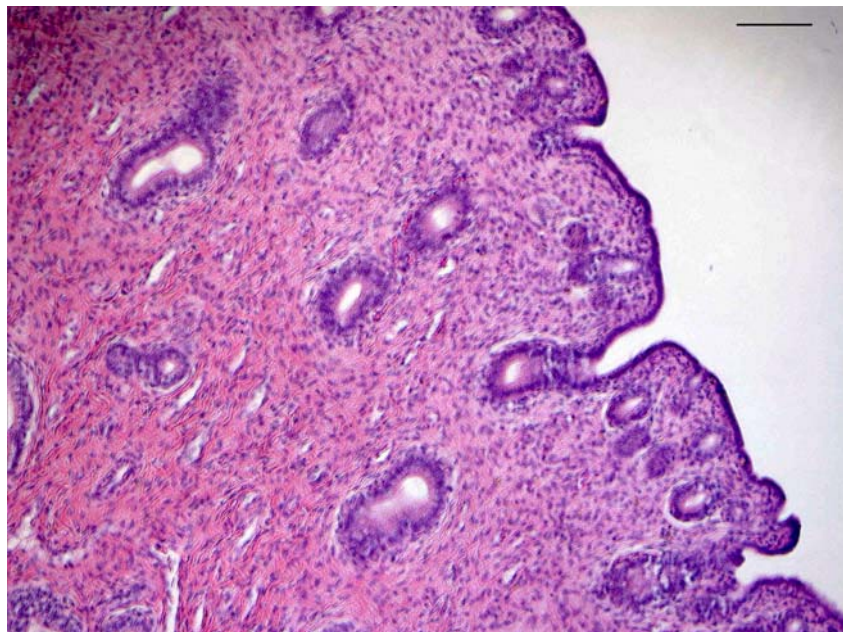


Abb. 4.4.1: Drüsen in der Bindegewebsschicht der caninen Cervix bei einer ingraviden Hündin (H.E.-Färbung, Balkenlänge: $100 \mu\text{m}$).

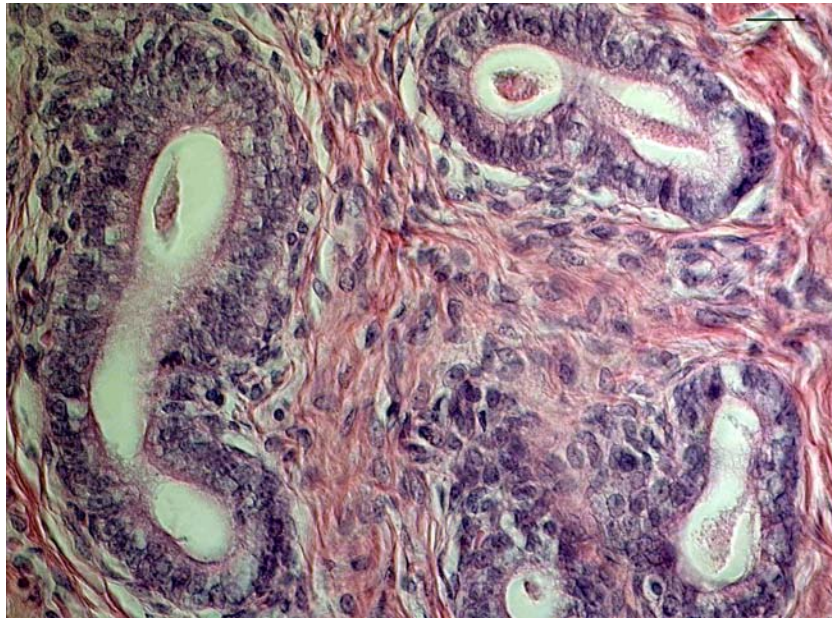


Abb. 4.4.2: Darstellung von cervicalen Drüsen in der *Lamina propria* bei einer ingraviden Hündin (H.E.-Färbung, Balkenlänge: 20 μm).

Tab. 4.4.1: Mittlere Drüsenfläche in der Cervix bei ingraviden Hündinnen in μm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Die regionalen Unterschiede erwiesen sich als statistisch nicht signifikant ($p = 0,865$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	2909,3	2,0	840,9 - 9612,4
Region 2	23	2644,2	2	561,1 - 8588,7
Region 3	21	2294,0	2,1	410,7 - 4877,7

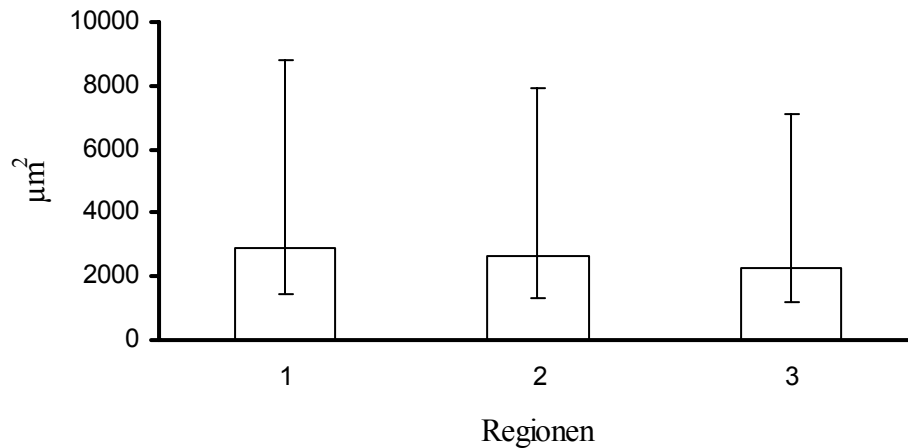


Abb. 4.4.3: Darstellung der mittleren Drüsenfläche in der Cervix bei ingraviden Hündinnen, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Regionen ($p = 0,865$).

Ein Einfluss der Lokalisation auf die mittlere Drüsenfläche ließ sich nicht zeigen ($p = 0,865$). Die Steroidhormonkonzentration hatte signifikante Auswirkungen auf die Drüsenfläche. Mit steigender Progesteronkonzentration war eine Zunahme der mittleren Drüsenfläche zu beobachten ($p = 0,014$; $r = 0,667$). Dieser Einfluss konnte für Östradiol-17 β nicht nachgewiesen werden ($p = 0,55$; $-0,063$), wohl aber für den Östradiol-Progesteronquotienten ($p = 0,011$; $r = -0,729$). Je kleiner der Östradiol-Progesteronquotient, desto größer erwies sich die mittlere Drüsenfläche.

Bei den Geburtstieren betrug die mittlere Drüsenfläche $10774,6 \mu\text{m}^2$ im cranialen Drittel und $8377,2 \mu\text{m}^2$ im mittleren Drittel. Im caudalen Cervixbereich wurden keine Drüsen nachgewiesen (Tab. 4.4.2, Abb. 4.4.4).

Tab. 4.4.2: Mittlere Drüsenfläche im cervicalen Bindegewebe in der Gruppe der Hündinnen in der Geburt in μm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	2	10774,6	1,7	7392,7 - 15706
Region 2	5	8377,2	-	
Region 3	2	keine Drüsen		

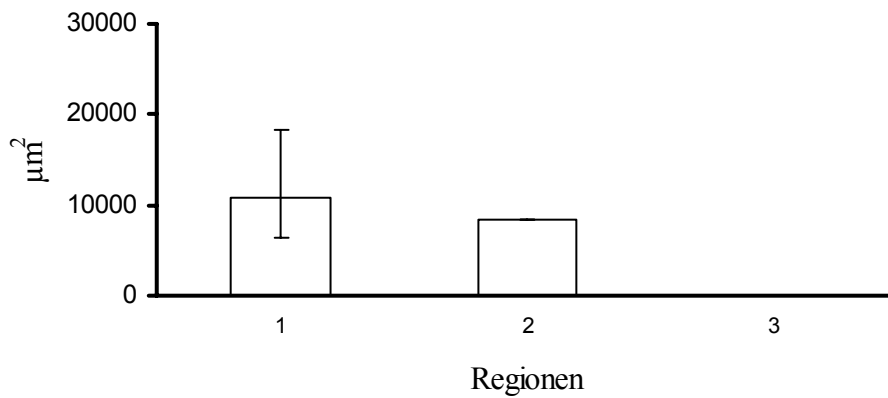


Abb. 4.4.4: Mittlere Drüsenfläche in der Cervix in der Gruppe der Hündinnen intra partum, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Unter der Geburt erfolgte eine deutliche Zunahme der mittleren Drüsenfläche in der cranialen und mittleren Region (Abb. 4.4.5).

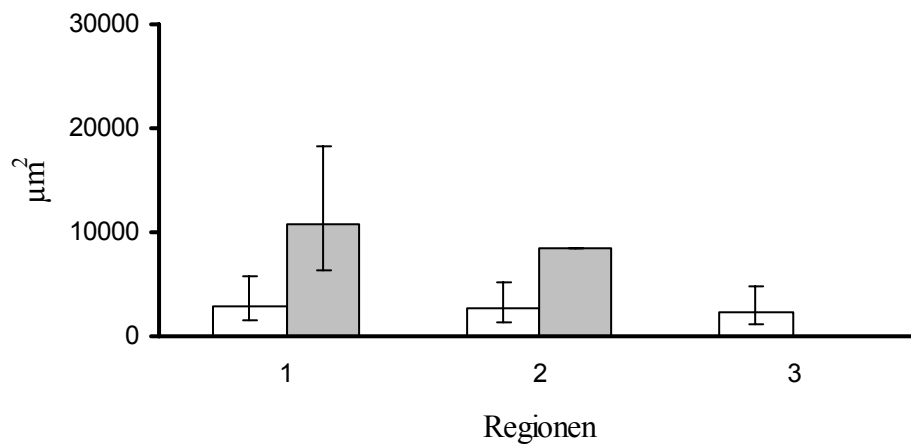


Abb. 4.4.5: Vergleich der mittleren cervicalen Drüsenfläche bei ingraviden Tieren (weiß) und Tieren intra partum (grau), dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Die Dichte der Drüsen pro mm^2 betrug bei den ingraviden Tieren 33,6 im cranialen Cervixdrittel, 7,6 im mittleren Drittel und 1,9 im caudalen Drittel. Es zeigte sich eine abnehmende Tendenz der Drüsendichte von cranial nach caudal (Tab. 4.4.3, Abb. 4.4.6).

Tab. 4.4.3: Dichte der cervicalen Drüsen in der Gruppe der ingraviden Hündinnen pro mm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Die Unterschiede zwischen den Regionen stellten sich signifikant dar ($p = 0,0235$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	33,6	8,37	0,33- 240,5
Region 2	23	7,6	15,54	0,33 - 192,1
Region 3	21	1,9	12,33	0,33 - 88,5

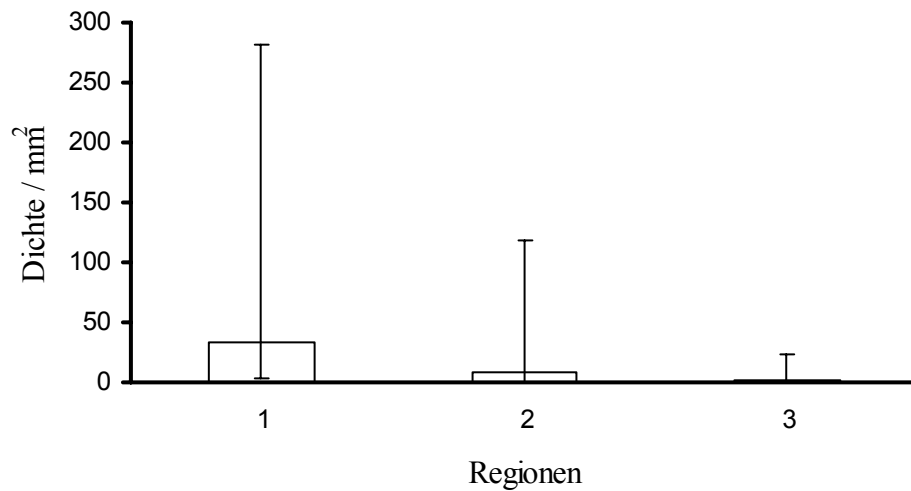


Abb. 4.4.6: Dichte der cervicalen Drüsen in der Gruppe der ingraviden Hündinnen pro mm^2 , dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den Regionen waren signifikant ($p = 0,0235$).

Die Dichte der Drüsen nahm von cranial nach caudal ab. Es stellte sich eine statistisch signifikante Abhängigkeit der Drüsendichte von der jeweiligen Region in der Gruppe der ingraviden Hündinnen dar ($p = 0,0235$).

Der Einfluss der Steroidhormonkonzentration war statistisch nicht signifikant (Östradiol-17 β : $p = 0,33$; $r = 0,245$; Progesteron: $0,88$; $r = -0,094$; Östradiol-Progesteronquotient: $p = 0,781$; $r = 0,068$).

In der Gruppe der Geburtstiere wurden bei zwei Hündinnen Drüsen nachgewiesen, die sich in der cranialen und mittleren Region befanden. Im Bereich der caudalen Region konnten keine Drüsen gefunden werden. Auch hier zeigte sich nach caudal eine Abnahme der Drüsendichte (Tab. 4.4.4, Abb. 4.4.7).

Tab. 4.4.4: Dichte der cervicalen Drüsen in der Gruppe der Hündinnen in der Geburt pro mm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	2	24,6	1,38	0,33 - 30,9
Region 2	5	2,8	27,4	0,33 - 30,1
Region 3	2	keine Drüsen		

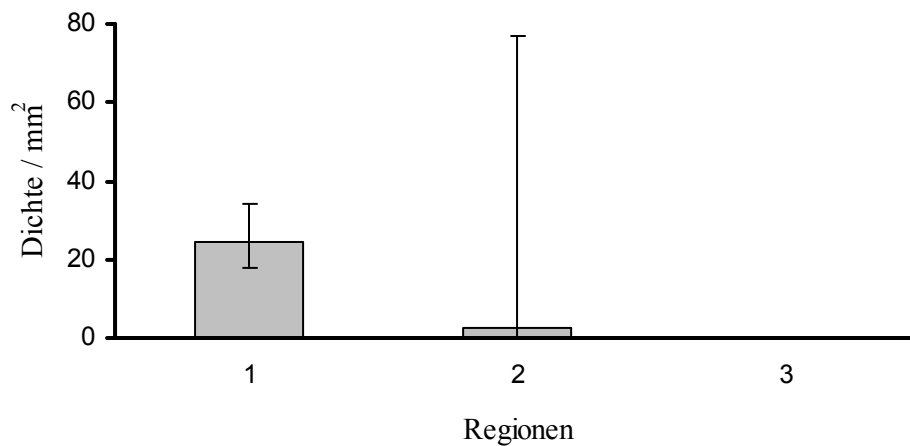


Abb. 4.4.7: Dichte der cervicalen Drüsen in der Gruppe der Geburtstiere pro mm^2 , dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Unter der Geburt sind im Gegensatz zu ingraviden Tieren in der caudalen Region keine Drüsen zu finden, in der cranialen und mittleren Region verringert sich die Dichte der Drüsen (Abb. 4.4.8).

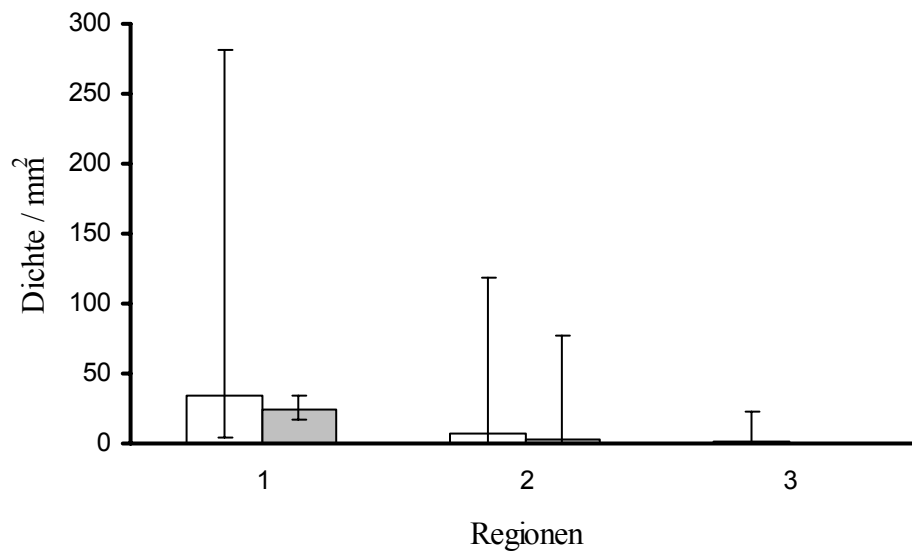


Abb. 4.4.8: Vergleich der cervicalen Drüsendichte zwischen ingraviden Tieren (weiß) und Tieren intra partum (grau) pro mm², dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

4.5 Vaskuläre Strukturen

Arterielle und venöse Gefäße befanden sich in allen Schichten der *Lamina propria*, wobei eine Zunahme der Anzahl und der Größe der Gefäße in den tieferen Bindegewebsschichten zu beobachten war (Abb. 4.5.1).

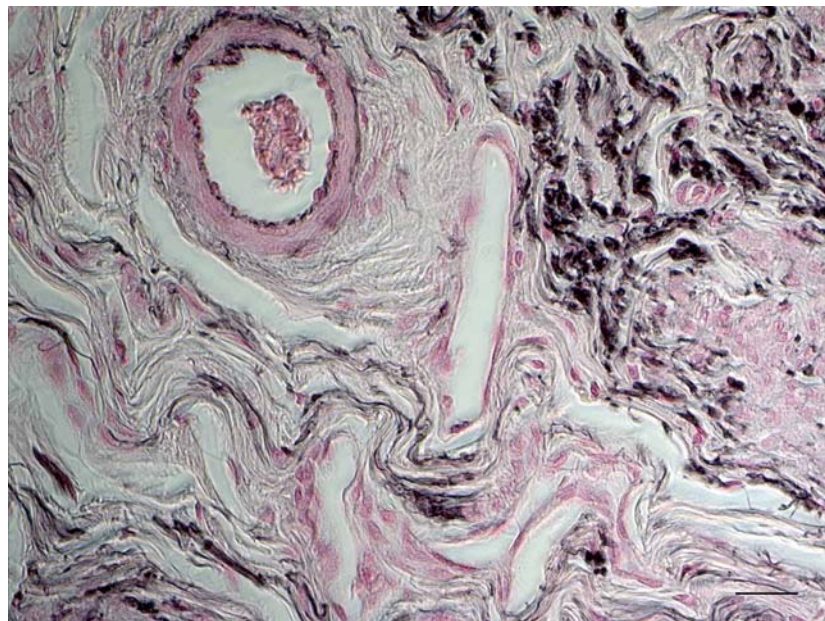


Abb. 4.5.1: Gefäße in der *Lamina propria* der caninen Cervix bei einer ingraviden Hündin, links im Bild ein arterielles, rechts ein venöses Gefäß, dargestellt in tiefer Bindegewebsschicht (Resorcin-Fuchsin-Färbung, Balkenlänge: 20 µm).

Arterien unterschieden sich von den Venen durch ihre dickwandige muskuläre *Tunica media* und ihre innere Auskleidung mit einer *Membrana elastica interna*, die in der Resorcin-Fuchsin Färbung gut zu erkennen war (Abb. 4.5.2). Arteriolen und Venolen waren deutlich kleinlumiger und besaßen nur ein bis drei Muskelzellschichten.

In die Auswertung einbezogen wurden alle Gefäße, die sich in der Bindegewebsschicht befanden.

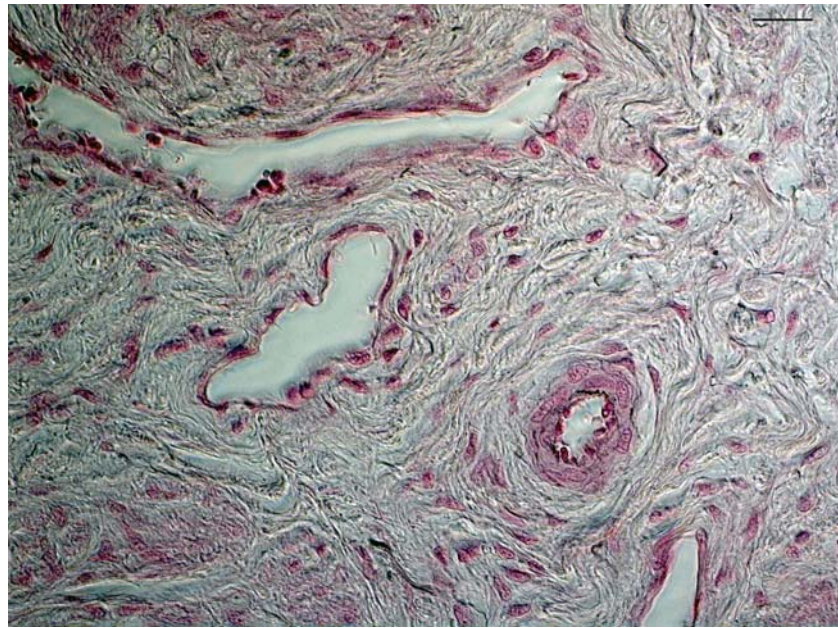


Abb. 4.5.2: Darstellung von venösen Gefäßen und einem sich im rechten unteren Bildviertel befindlichen arteriellen Gefäß in der Cervix einer ingraviden Hündin. Charakteristisch ist die im Vergleich zu den venösen Gefäßen dickwandige Muskelzellschicht des arteriellen Gefäßes (Resorcin-Fuchsin-Färbung, Balkenlänge: 20 µm).

4.5.1 Venen

Venöse Gefäße kamen in allen Schichten der *Lamina propria* vor. Vor allem in den tieferen Bindegewebsschichten befanden sich längs und quer verlaufende venöse Gefäße.

In der Gruppe der nicht trächtigen Hündinnen betrug die durchschnittliche Fläche der venösen Gefäße im cranialen Abschnitt $960,5 \mu\text{m}^2$, im mittleren Abschnitt $986,7 \mu\text{m}^2$ und im caudalen Abschnitt $1174,9 \mu\text{m}^2$. Es war eine Zunahme der Fläche der venösen Gefäße von cranial nach caudal zu beobachten, die jedoch statistisch nicht signifikant war ($p = 0,1233$, Tab. 4.5.1.1, Abb. 4.5.1.1).

Tab. 4.5.1.1: Mittlere Fläche der venösen Gefäße in der Cervix ingravider Hündinnen in μm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Ein signifikanter regionaler Unterschied der mittleren Fläche der venösen Gefäße bestand nicht ($p = 0,1233$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	960,5	1,7	420,8 - 2048,7
Region 2	23	986,7	1,7	327,3 - 4029,4
Region 3	21	1174,9	1,5	578,4 - 2366,3

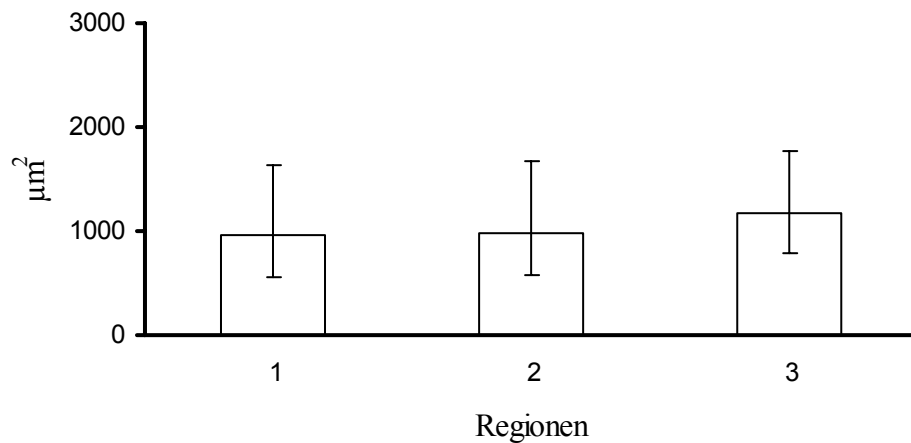


Abb. 4.5.1.1: Mittlere Fläche der venösen Gefäße in der Cervix ingravider Hündinnen, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den Regionen waren nicht signifikant ($p = 0,1233$).

Es stellte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Progesteronkonzentration und der mittleren Fläche der venösen Gefäße heraus ($p = 0,001$; $r = 0,623$). Mit steigendem Progesteronwert nahm die mittlere Fläche der venösen Gefäße zu. Der Einfluss der Konzentration von Östradiol-17 β war nicht signifikant ($p = 0,2$; $r = 0,472$). Weiterhin war der Einfluss des Östradiol-Progesteronquotienten signifikant ($p = 0,016$; $r = -0,546$). Ein sinkender Östradiol-Progesteronquotient korrelierte mit einer Vergrößerung der mittleren Fläche der venösen Gefäße.

In der Gruppe der Geburtstiere betrug die mittlere Fläche der venösen Gefäße $820,16 \mu\text{m}^2$ im cranialen, $1186,56 \mu\text{m}^2$ im mittleren und $829,28 \mu\text{m}^2$ im caudalen Drittel (Tab. 4.5.1.2, Abb. 4.5.1.2).

Tab. 4.5.1.2: Mittlere Fläche der venösen cervicalen Gefäße in der Gruppe der Hündinnen in der Geburt in μm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	2	820,2	3,7	747,3 - 900,3
Region 2	5	1186,6	1,3	873,9 - 1746
Region 3	2	829,3	1,2	729,9 - 942,0

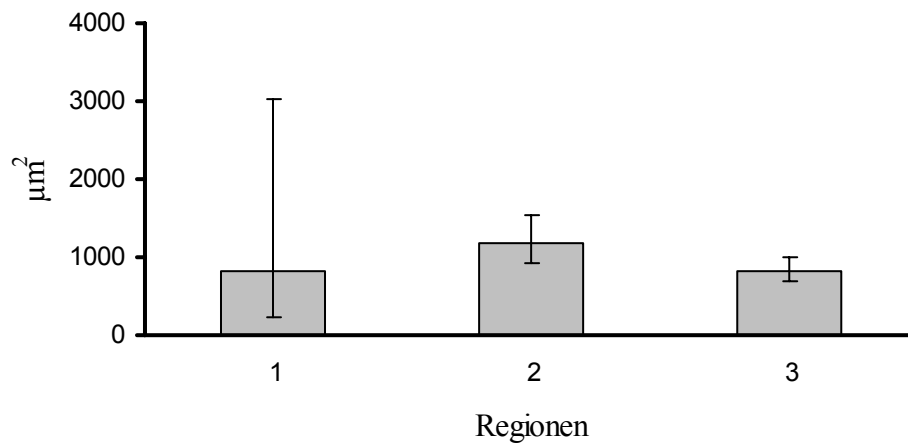


Abb. 4.5.1.2: Mittlere Fläche der venösen cervicalen Gefäße in der Gruppe der Hündinnen intra partum, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Die Dichte der venösen Gefäße in der Cervix von ingraviden Hündinnen stellte sich relativ konstant entlang der Longitudinalachse mit 58,52 im cranialen, 65,2 im mittleren und 63,54 Venen pro mm^2 im caudalen Abschnitt dar (Tab. 4.5.1.3).

Tab. 4.5.1.3: Dichte der venösen cervicalen Gefäße bei ingraviden Hündinnen pro mm², angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Regionen nachgewiesen werden ($p = 0,4599$).

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Region1	19	58,52	23,38	23,6 - 101,7
Region 2	23	65,2	21,71	26,4 - 99,7
Region 3	21	63,54	20,04	33,9 - 104,4

Die regionalen Unterschiede in der Dichte der venösen Gefäße waren statistisch nicht signifikant ($p = 0,4599$).

Ein hormoneller Einfluss auf die Dichte der venösen Gefäße konnte nicht gezeigt werden (Östradiol-17 β : $p = 0,94$; $r = 0,036$; Progesteron: $p = 0,86$; $r = 0,028$; Östradiol-Progesteronquotient: $p = 0,882$; $r = -0,036$).

Bei den Tieren in der Geburt befanden sich im cranialen Abschnitt 78,58, im mittleren Bereich 55,18 und im caudalen Bereich 63,54 venöse Gefäße pro mm². Es zeigte sich eine leicht abnehmende Tendenz der Dichte der venösen Gefäße von cranial nach caudal (Tab. 4.5.1.4).

Tab. 4.5.1.4: Dichte der venösen cervicalen Gefäße bei Hündinnen in der Geburt pro mm², angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a), Standardabweichung (SD) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_a	SD	Spannweite
Region1	2	78,58	3,34	76,3 - 80,2
Region 2	5	55,18	13,36	40,1 - 73
Region 3	2	63,54	20,04	48,9 - 78

In der Gruppe der Geburtstiere war in der cranialen Region die Dichte der venösen Gefäße höher (Abb. 4.5.1.3).

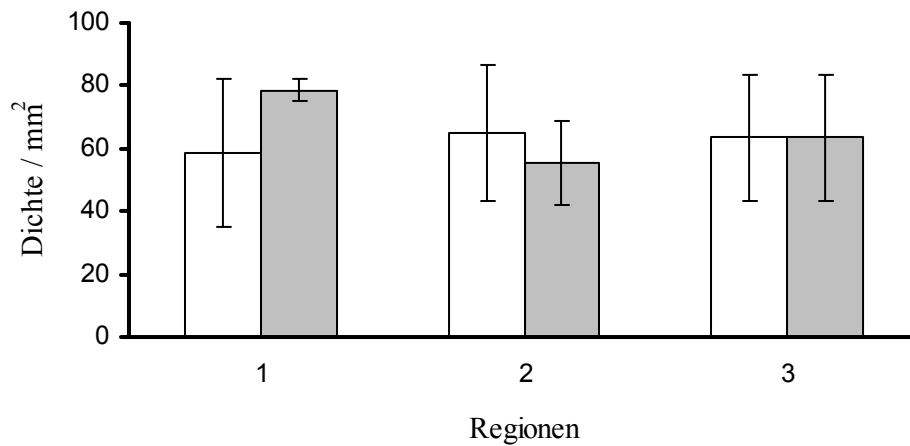


Abb. 4.5.1.3: Vergleich der Dichte der venösen cervicalen Gefäße bei ingraviden Hündinnen (weiß) und Hündinnen intra partum (grau), dargestellt als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD).

4.5.2 Arterien

Die mittlere Fläche der arteriellen Gefäße betrug $802,79 \mu\text{m}^2$ im cranialen, $657,36 \mu\text{m}^2$ im mittleren und $758,58 \mu\text{m}^2$ im caudalen Abschnitt der Cervix bei ingraviden Hündinnen (Tab. 4.5.2.1, Abb. 4.5.2.1).

Tab. 4.5.2.1: Mittlere Fläche der arteriellen Gefäße im cervicalen Gewebe bei ingraviden Hündinnen in μm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Regionen ($p = 0,812$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	802,79	2,08	292,85 - 2817
Region 2	23	657,36	2,1	220,23 - 3287,8
Region 3	21	758,58	2,4	180,07 - 3289,6

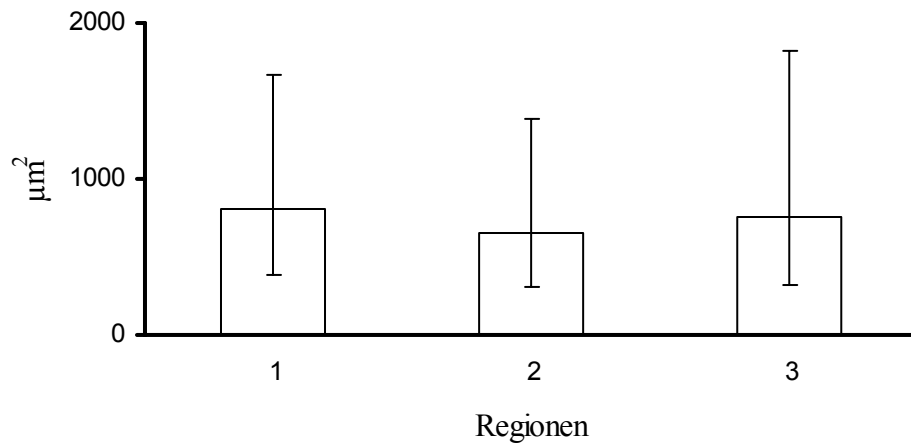


Abb. 4.5.2.1: Mittlere Fläche der arteriellen Gefäße im cervicalen Gewebe bei ingraviden Hündinnen, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den Regionen waren nicht signifikant ($p = 0,812$).

Zwischen den Regionen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,812$).

Eine steigende Östrogenkonzentration korrelierte mit einer Zunahme der mittleren Fläche der arteriellen Gefäße ($p = 0,02$; $r = 0,67$). Der Einfluss der Progesteronkonzentration ($p = 0,054$; $r = 0,483$) und des Östradiol-Progesteronquotienten ($p = 0,469$; $r = -0,244$) war nicht signifikant.

In der Gruppe der Geburtstiere nahm die mittlere Fläche der arteriellen Gefäße im mittleren Drittel $1064,4 \mu\text{m}^2$ und im caudalen Drittel $973,6 \mu\text{m}^2$ ein. Im cranialen Drittel wurden keine arteriellen Gefäße nachgewiesen (Tab. 4.5.2.2, Abb. 4.5.2.2).

Tab. 4.5.2.2: Mittlere Fläche der arteriellen cervicalen Gefäße bei Hündinnen in der Geburt in μm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	2	keine Arterien nachweisbar		
Region 2	5	1064,4	1,8	470,2 - 1555,7
Region 3	1	973,6	-	0

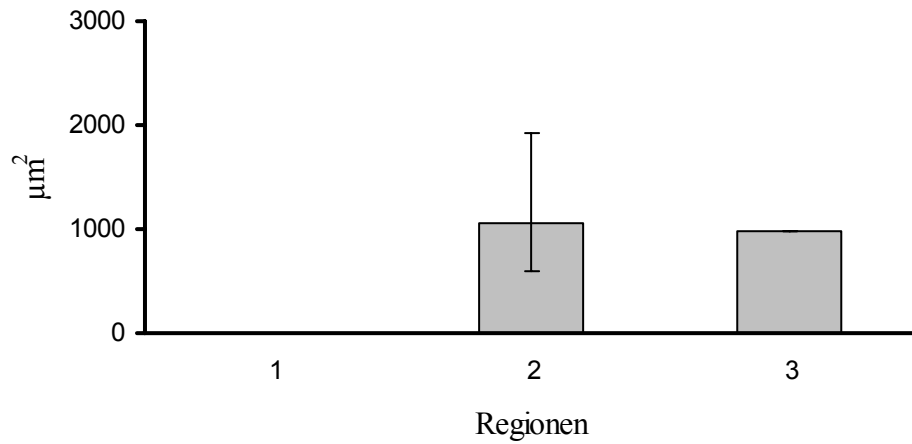


Abb. 4.5.2.2: Mittlere Fläche der arteriellen Gefäße im cervicalen Gewebe in der Gruppe der Hündinnen intra partum, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

In der Gruppe der Geburtstiere war in der mittleren und in der caudalen Region eine Zunahme der mittleren Fläche der arteriellen Gefäße zu verzeichnen (Abb. 4.5.2.3).

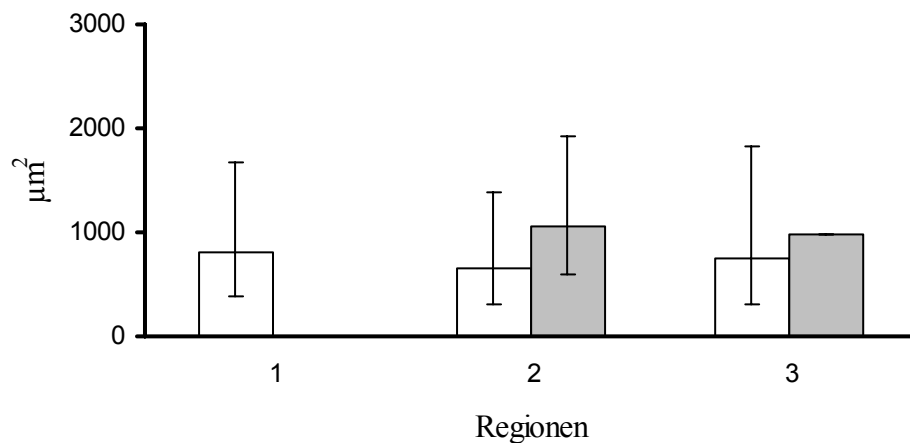


Abb. 4.5.2.3: Vergleich der mittleren Fläche arterieller cervicaler Gefäße bei ingraviden Hündinnen (weiß) und Hündinnen intra partum (grau), dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Die Dichte der arteriellen Gefäße nahm in Gruppe 1 von cranial nach caudal zu. Die Dichte der arteriellen Gefäße betrug in der cranialen Region 0,66, in der mittleren Region 1,0 und in der caudalen Region 1,34 pro mm² (Tab. 4.5.2.3).

Tab. 4.5.2.3: Dichte der cervicalen arteriellen Gefäße in der Gruppe der ingraviden Hündinnen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Die regionalen Unterschiede waren nicht signifikant ($p = 0,2338$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	0,66	3,19	0,33 - 5
Region 2	23	1	3,73	0,33 - 10
Region 3	21	1,34	2,7	0,33 - 8,35

Die vergleichende Betrachtung der verschiedenen Regionen ergab keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,2338$). Ein Einfluss der Steroidhormonkonzentration auf die Dichte der arteriellen Gefäße konnte nicht nachgewiesen werden (Östradiol-17 β : $p = 0,76$; $r = -0,003$; Progesteron: $p = 0,42$; $r = 0,185$; Östradiol-Progesteronquotient: $p = 0,411$; $r = -0,2$).

In der Gruppe der Geburtstiere betrug die Dichte der arteriellen Gefäße im mittleren Drittel 1,5 und im caudalen Drittel 1,18 pro mm². Im cranialen Drittel wurden keine arteriellen Gefäße nachgewiesen (Tab. 4.5.2.4, Abb. 4.5.2.4).

Tab. 4.5.2.4: Dichte der cervicalen arteriellen Gefäße in der Gruppe der Hündinnen in der Geburt pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	2	nicht nachweisbar		
Region 2	5	1,5	3,17	0,33 - 6,2
Region 3	1	1,18	-	0

In der Gruppe der Geburtstiere wurde in der mittleren Region eine geringgradig höhere Dichte und in der caudalen Region eine geringgradig niedrigere Dichte der cervicalen arteriellen Gefäße festgestellt (Abb. 4.5.2.4).

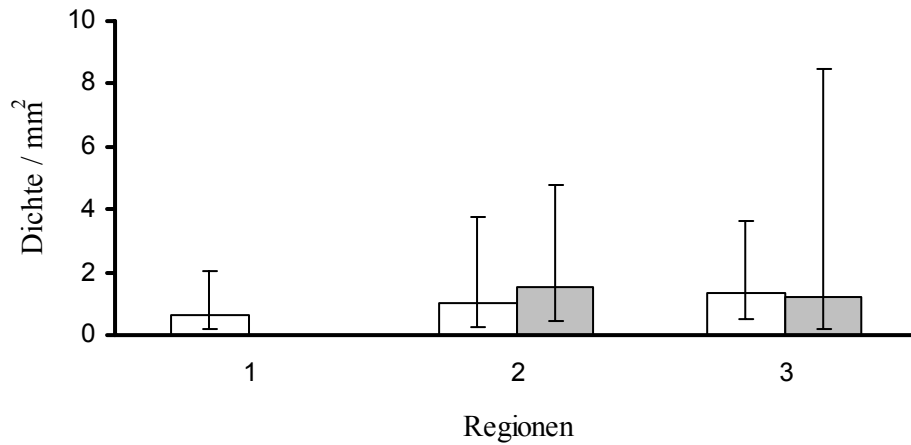


Abb. 4.5.2.4: Vergleich der Dichte der cervicalen arteriellen Gefäße bei ingraviden Tieren (weiß) und Tieren intra partum (grau), dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

4.6 Eosinophile Granulozyten

Eosinophile Granulozyten wurden im caninen Cervicalgewebe nur in sehr geringer Anzahl festgestellt. Der maximale Zelldurchmesser betrug 12 - 14 μm , ihr Kern war gelappt. Die in der Giemsa- Färbung sich rot darstellenden Granula füllten den Zellkörper weitgehend aus (Abb. 4.6.1). Ihre Zelldichte pro mm^2 betrug 0,3 in der cranialen Region, 0,34 in der mittleren Region und 0,34 in der caudalen Region in der Gruppe der ingraviden Hündinnen (Tab. 4.6.1, Abb. 4.6.2).

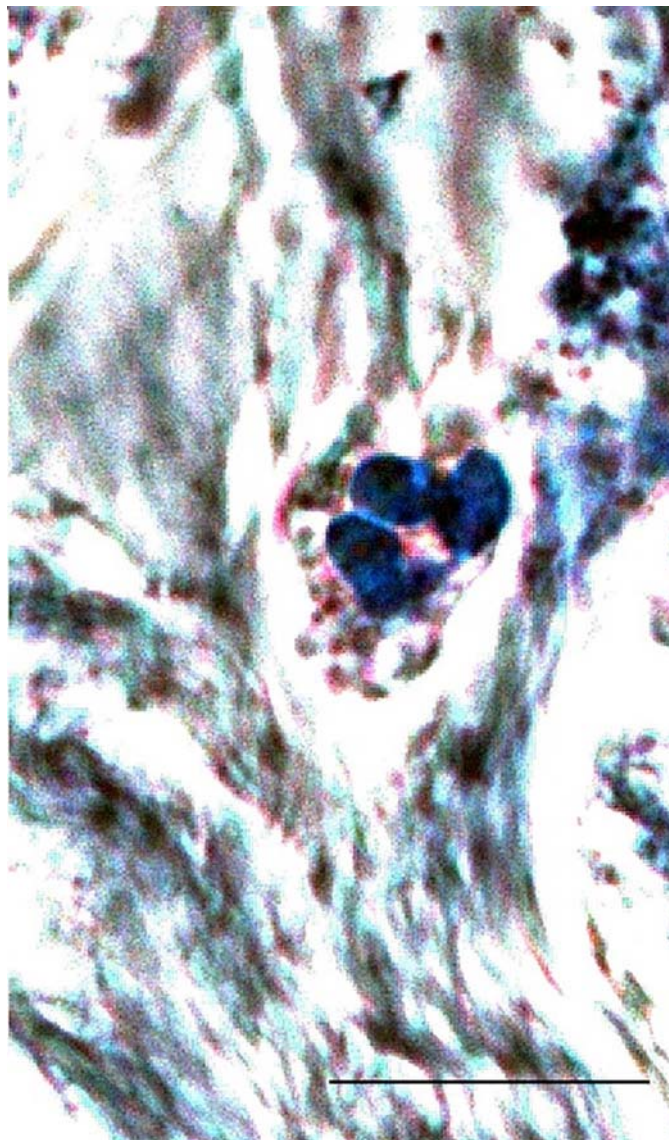


Abb. 4.6.1: Eosinophiler Granulozyt in der *Lamina propria* der caninen Cervix bei einer ingraviden Hündin. Charakteristisch sind der gelappte Kern und die rötlichen Granula (Giemsa-Färbung, Balkenlänge: 10 μm).

Tab. 4.6.1: Dichte der eosinophilen Granulozyten im Cervicalgewebe bei ingraviden Hündinnen pro mm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Die regionalen Unterschiede waren statistisch nicht signifikant ($p = 0,9266$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	0,3	1,19	0,33 - 0,5
Region 2	23	0,34	1,66	0,33 - 2,2
Region 3	23	0,34	1,63	0,33 - 1,7

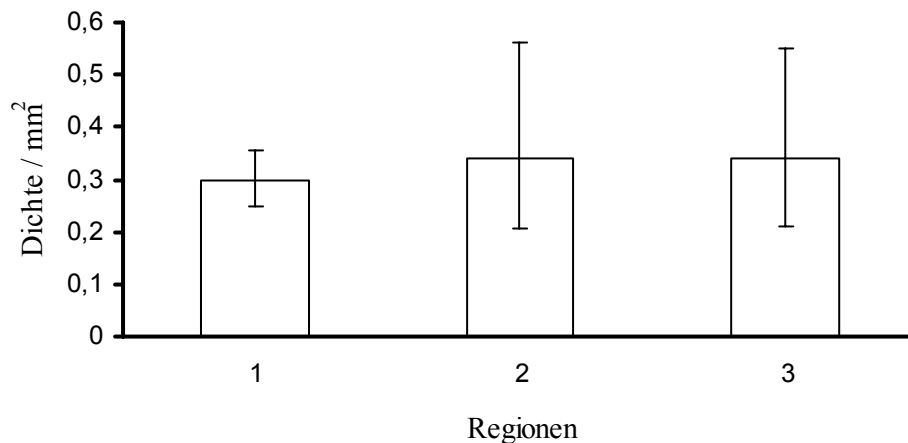


Abb. 4.6.2: Dichte der eosinophilen Granulozyten im Cervicalgewebe bei ingraviden Hündinnen, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den Regionen waren statistisch nicht signifikant ($p = 0,9266$).

Eosinophile Granulozyten wurden nur in Gruppe 1 nachgewiesen. Es zeigte sich keine Abhängigkeit der Zelldichte von der Region ($p = 0,9266$). Der Einfluss der Östradiol-17 β -Konzentration war knapp nicht signifikant ($p = 0,06$; $r = -0,373$). Die Progesteronkonzentration ($p = 0,27$; $r = 0,108$) und der Östradiol-Progesteronquotient ($p = 0,201$; $r = -0,299$) zeigten ebenso keinen signifikanten Einfluss auf die Dichte der eosinophilen Granulozyten.

4.7 Mastzellen

Die Mastzellen waren im Vergleich zu den eosinophilen Granulozyten regelmäßig zu finden. Der maximale Durchmesser der ellipsoiden bis pyramidenförmigen Mastzellen betrug 12 - 15 μm . Anhand ihrer metachromatisch gefärbten magentafarbenen Granula hoben sie sich deutlich gegen den blau gefärbten Hintergrund ab (Abb. 4.7.1). Die Granula verteilten sich über den gesamten Zellkörper oder agglomerierten an einem Zellpol. Die Mastzellen waren im cranialen Abschnitt mit einer Dichte von 1,42 Zellen, im mittleren Abschnitt mit 2,1 Zellen und im caudalen Abschnitt mit 1,74 Zellen pro mm^2 vertreten (Tab. 4.7.1, Abb. 4.7.2).

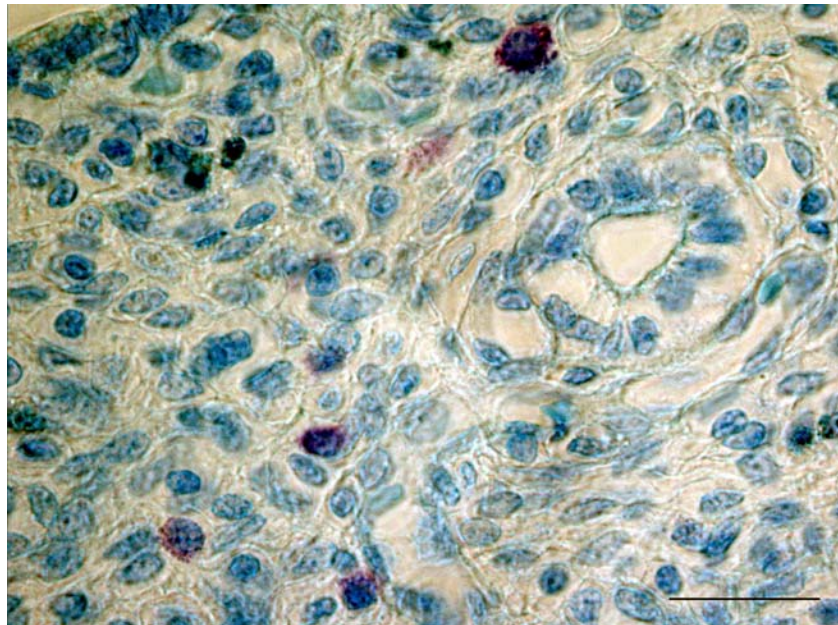


Abb. 4.7.1: Mastzellen in der *Lamina propria* der caninen Cervix bei einer ingraviden Hündin. Die magentafarbenen Granula heben sich deutlich gegen den blau gefärbten Hintergrund ab (Toluidinblau-Färbung, Balkenlänge: 20 μm).

Tab. 4.7.1: Dichte der Mastzellen im Cervicalgewebe bei ingraviden Hündinnen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite. Signifikante Unterschiede zwischen den Regionen wurden nicht nachgewiesen ($p = 0,2086$).

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	19	1,42	7,21	0,33 - 30,6
Region 2	23	2,1	5,57	0,33 - 7,2
Region 3	22	1,74	4,98	0,33 - 28,9

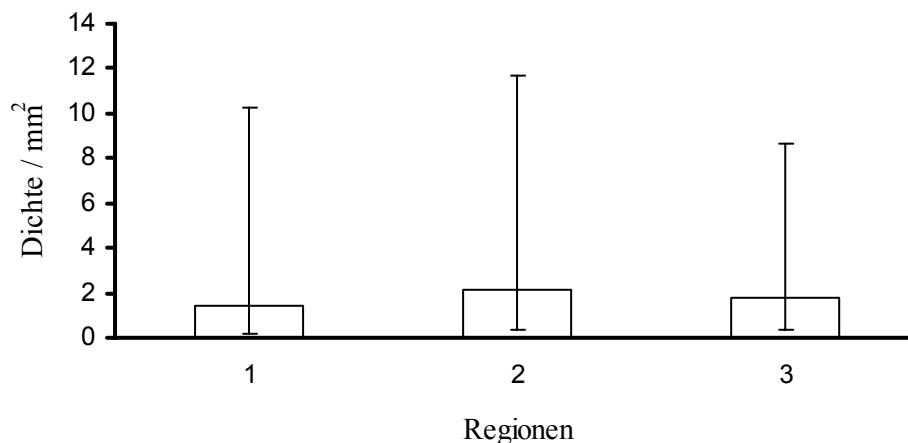


Abb. 4.7.2: Dichte der Mastzellen im Cervicalgewebe bei ingraviden Hündinnen pro mm², dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Regionen ($p = 0,2086$).

Die Unterschiede zwischen den Regionen waren in Gruppe 1 nicht signifikant ($p = 0,2086$). Ein Einfluss der Konzentrationen von Östradiol-17 β ($p = 0,26$; $r = -0,249$), Progesteron ($p = 0,57$; $r = 0,061$) und des Östradiol-Progesteronquotienten ($p = 0,499$; $r = -0,165$) auf die Anzahl der Mastzellen konnte nicht nachgewiesen werden.

In der Gruppe der Geburtstiere betrug die Dichte der Mastzellen pro mm² im cranialen Drittel 2,98, im mittleren Drittel 0,4 und im caudalen Drittel 0,98 (Tab. 4.7.2).

Tab. 4.7.2: Dichte der Mastzellen im Cervicalgewebe von Hündinnen in der Geburt pro mm^2 , angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g), Streufaktor (SF) und Spannweite.

	Anzahl	\bar{x}_g	SF	Spannweite
Region1	2	2,98	28,47	0,33 - 31,7
Region 2	5	0,4	2,23	0,33 - 1,67
Region 3	2	0,98	5,795	0,33 - 3,34

Vergleichend fiel in der Gruppe der ingraviden Hündinnen in der mittleren und caudalen Region die Anzahl der Mastzellen pro mm^2 etwas höher, in der cranialen Region geringgradig niedriger aus.

5 Diskussion

Über die Cervix der Hündin gibt es bislang nur wenige Studien. Allgemeine anatomische Beschreibungen der caninen Cervix uteri finden sich in den Lehrbüchern der Anatomie sowie Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung (Schummer und Vollmerhaus, 1987; Johnston und Kustritz, 2001). Hier werden grundlegende Beschreibungen der caninen Cervix als zwischen dem Uterus und der Vagina abdominal liegendes derbes Organ, umgeben von bis in den Vaginalbereich ziehender Muskulatur, wiedergegeben. Weiterhin sind Informationen zur Länge der Cervix (el-Banna und Hafez, 1972) sowie zur makroskopischen Morphologie der *Portio vaginalis cervicis* (Lübke, 1997) zu finden.

Eine ausführlichere Beschreibung der caninen Cervix gibt Roszel (1992). Hier wurde die *Tunica muscularis* sowie das Cervixepithel in Abhängigkeit von den Zyklusphasen untersucht. Hypertrophie und Kontraktion der sich bis in die dorsale vaginale Falte erstreckenden cervicalen Muskelfasern, die vom Autor als Longitudinalmuskel bezeichnet werden, führen zu einer Streckung und Weitung der Cervix und unterstützen ihre Öffnung zum Zeitpunkt der Bedeckung (Roszel, 1992). Begleitet wird dies von einer Zunahme der Invaginationen im Cervixepithel, die bei einer Streckung des Cervixkanals ein glattes verlängertes Cervixepithel freilegen. Diese Veränderungen beginnen im Proöstrus und erreichen ihr Maximum zum Zeitpunkt der Konzeption. Weiterhin beschreibt der Autor eine zyklusabhängige Proliferation des Cervixepithels. Eine Differenzierung hinsichtlich unterschiedlicher Lokalisationen entlang des *Canalis cervicis* erfolgte durch Roszel (1992) nicht. Darüber hinaus gibt es bislang keine Untersuchung über die Abhängigkeit morphologischer Parameter von den peripheren Progesteron- und Östradiol-17 β -Konzentrationen.

Da die Anforderungen im Bereich der reproduktionsmedizinischen Betreuung der Hündinnen zunehmen, ist es notwendig, tiefergehende Informationen über den Aufbau und die Morphologie der Geschlechtsorgane zu gewinnen, um neue therapeutische Konzepte zu entwickeln.

Während sich eine Reihe von Untersuchungen mit der Vagina, dem Ovar und dem Uterus der Hündin beschäftigen (Gregory et al., 1999; Johnston und Kustritz, 2001; Galabova et al., 2003; Leitner et al., 2003), liegen bisher kaum Studien zur Cervix vor.

Diese scheint jedoch im Rahmen der Reproduktion eine größere Bedeutung einzunehmen, als bisher angenommen (Silva et al., 1995). So bedingt der Cervixschluss die zeitliche Begrenzung der fertilen Phase im Östrus.

Im Zusammenhang mit der konservativen Behandlung der Pyometra (Trasch et al., 2003) und der Abortinduktion (Onclin und Verstegen, 1996; Hettling, 1998) spielt die medikamentelle Öffnung der Cervix ebenfalls eine entscheidende Rolle. Dies gelingt in der Regel mit Antigestagenen. Es gibt aber Hündinnen, bei denen es nicht gelingt, durch antigestagene Wirkstoffe die Cervix zu öffnen.

5.1 Diskussion der Methodik

Für die histologischen Untersuchungen wurden nur Tiere ausgewählt, die allgemein und geschlechtsgesund waren. Die allgemeine Untersuchung umfasste die Aufnahme des Vorberichtes, Pflege- und Ernährungszustand, Adspektion der äußeren Schleimhäute, Palpation der Körperlymphknoten, Puls, Atmung, Körpertemperatur, Auskultation von Herz und Lunge sowie die Palpation des Abdomens, um Störungen des allgemeinen Gesundheitsstatus auszuschließen. In der speziellen gynäkologischen Untersuchung wurde mittels Adspektion und Palpation das äußere Genitale beurteilt. Durch den Einsatz der Vaginalzytologie wurde das Vorliegen von subklinischen Entzündungen im Bereich der Vagina ausgeschlossen. Ein derartiges Vorgehen hat sich bei vergleichbarer Fragestellung an der equinen Cervix bewährt (Huchzermeyer, 2003).

Der Schwerpunkt der Arbeit lag auf der Untersuchung der Cervix ingravider Tiere. Zusätzlich zu der allgemeinen und gynäkologischen Untersuchung wurden bei diesen Hündinnen Blutproben zur Hormonanalyse entnommen, um im Rahmen der Datenauswertung eine Korrelation zwischen den morphologischen Parametern und den Hormonkonzentrationen herzustellen.

Sinn des Vorgehens war es, ein definiertes Probenmaterial zu erhalten, um nicht die Cervix als Organ isoliert zu betrachten, sondern die Gesamtsituation des Hundes. Ursprünglich war es geplant, die Hündinnen anhand der Vaginalzytologie und den Angaben aus dem Vorbericht einem starren Zyklusstadium zuzuordnen, wie es für viele klinische Fragestellungen erfolgte (Tammer et al., 1994). Ein derartiges Vorgehen hätte aber dazu geführt, dass viele Tiere anhand ihrer Hormonwerte nicht eindeutig einem Zyklusstand hätten zugeordnet werden können, da eine deutliche Diskrepanz zwischen den Angaben in der Literatur und den

gewonnenen Befunden bestand. Daher erfolgte die Überprüfung eines möglichen Einflusses auf die erhobenen morphologischen Parameter unter Berücksichtigung der absoluten Konzentrationen von Östradiol-17 β und Progesteron mithilfe einer multifaktoriellen Regressionsanalyse.

Zusätzlich wurden Tiere in die Untersuchung einbezogen, bei denen im Rahmen des Notdienstes eine *Sectio porro* durchgeführt wurde. Unter einer *Sectio porro* wird die Amputation des Uterus und der Eierstöcke verstanden (Arbeiter, 1993). Tiere mit einer *Sectio caesarea conservativa* konnten nicht verwendet werden, da hierbei die Cervix und der Uterus im Hund verbleiben.

Einschlusskriterium waren Hündinnen mit nicht übergangener Geburt, da hierdurch eine Beeinflussung der Morphologie des weichen Geburtsweges anzunehmen gewesen wäre. Da in dieser Gruppe die Probenanzahl deutlich geringer war, insgesamt konnte Gewebe von fünf Tieren gewonnen werden, wurde auch bei augenscheinlich großen Unterschieden der erhobenen Parameter zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 auf eine statistische Auswertung verzichtet. Trotzdem erfolgte zum Vergleich eine Gegenüberstellung der Ergebnisse der Tiere dieser Gruppe mit den ingraviden Hündinnen. Weiterhin ergab sich in der Gruppe der Geburtstiere die Schwierigkeit, dass es durch die mechanische Beanspruchung der Geburt und durch die chirurgische Entnahme der Proben teilweise zu einer Schädigung des Gewebes kam, sodass in einigen Fällen keine adäquate Erhebung aller Parameter möglich war. Obwohl es erstrebenswert gewesen wäre, wurde nach einer Dauer von 3,5 Jahren darauf verzichtet, die Gruppengröße zu erhöhen. Ein wichtiger Punkt ist, dass eine *Sectio porro* zu einem irreversiblen Verlust der Zuchtfähigkeit der Hündin führt und daher die Einverständniserklärung des Besitzers erfordert.

Zur Erfassung von regionalen Unterschieden wurde die Cervix in drei Abschnitte entlang der Longitudinalachse unterteilt, wobei darauf geachtet wurde, weder Vaginal- noch Uterusgewebe zu erfassen. Der Übergang vom Uterus- zum Cervixgewebe sowie vom Cervix- zum Vaginalgewebe verläuft morphologisch fließend und ist nicht durch eine genaue lokale Grenze gekennzeichnet. Nur Geweberegionen, die sich eindeutig der Cervix zuordnen ließen, fanden Verwendung. Typisch für die Vagina war ein mehrschichtiges verhorntes Epithel, während sich das Uterusepithel durch einschichtige Zellagen und hochprimatische Zellen eindeutig von der Cervix abgrenzte. Um zusätzlich die Gefahr von Fehlinterpretationen

zu vermeiden, wurde der potenzielle Einfluss der Steroidhormonkonzentration nur auf die mittlere Cervixregion bezogen.

Insgesamt wurden nur Parameter von Schnitten erfasst, die in dem entsprechenden Kompartiment eindeutig detektiert werden konnten. Daher schwankt die Anzahl der auswertbaren Proben bei den verschiedenen Parametern geringgradig, was jedoch in jedem Fall in der entsprechenden Tabelle angegeben wurde. Insbesondere in Region 1, welche den uterusnahen Anteil repräsentiert, kam es im Rahmen der Entnahmetechnik teilweise zu Beschädigungen der Gewebearchitektur, sodass in diesen Bereichen nicht alle Parameter erhoben werden konnten. Aus diesem Grund wurden beispielsweise im Rahmen der Erfassung der Epithelhöhe in Region 1 nur 11 von 23 Hündinnen in die Untersuchung einbezogen (siehe Abschnitt 4.2, Tab. 4.2.1).

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Darstellung der eosinophilen Granulozyten die Giemsa-Färbung angewendet. Sirius-Red hat sich bei verschiedenen Tierarten zur Anfärbung der eosinophilen Granulozyten im Cervicalgewebe bewährt (Wehrend et al., 2004c). Bei der Hündin hat sich diese Färbemethode zur Darstellung der eosinophilen Granulozyten als nicht geeignet erwiesen. Daher wurde die Giemsa-Färbung verwendet, die in histologischen Standardwerken für diese Indikation beschrieben wird (Romeis, 1989). Das Prinzip besteht in der Einstellung der Färbelösung auf einen pH-Wert von 4,5, da bei diesem pH-Wert nur eosinophile Granulozyten, dargestellt mit gelapptem blauen Kern und rötlichen Granula, angefärbt werden und damit eine deutliche Abgrenzung von neutrophilen Granulozyten möglich wird.

Mastzellen ließen sich ohne Probleme mit der Toluidin-Blau-Färbung darstellen. Die Anfärbbarkeit ihrer Granula beruht auf ihrem Gehalt an sulfatierten Glykosaminoglycanen, Heparin, Chondroitin- und Dermatansulfat und stellt eine etablierte Färbemethode für die Tierarten Pferd, Rind und Schwein dar (Jain, 1993; Galeotti et al., 1997; Welle et al., 1997).

Bei der statistischen Bearbeitung ergaben sich einige Aspekte, die beachtet werden mussten. So bestand die Notwendigkeit, eine Vielzahl der Parameter logarithmisch zu transformieren, da keine Normalverteilung vorlag. Dies betrifft die Epithelhöhe, die mittlere Fläche der Drüsen, die mittlere Fläche der venösen und arteriellen Gefäße sowie die Dichte der Drüsen, die Dichte der arteriellen Gefäße, die Dichte der eosinophilen Granulozyten und die Dichte der Mastzellen. Daraus ergab sich die Notwendigkeit, die Daten als geometrischer Mittelwert und Streufaktor darzustellen. Dies erschwert die Vergleichbarkeit der quantitativen Angaben mit

den Ergebnissen aus der Literatur, wo dies nicht erfolgte. Die Angabe des geometrischen Mittelwertes und des Streufaktors ist jedoch mathematisch korrekter, als wenn auf den arithmetischen Mittelwert und die Standardabweichung zurückgegriffen worden wäre.

5.2 Diskussion der histologischen Ergebnisse

5.2.1 Generelle histologische Struktur

Die Cervix der Hündin weist den generellen Aufbau der weiblichen Geschlechtsorgane bestehend aus dem Schleimhautepithel, *Tunica mucosa*, der Bindegewebsschicht, *Lamina propria* und der Muskelschicht, *Tunica muscularis*, auf, der für dieses Organ bei allen Tierarten beschrieben ist (Liebich, 1993). Während Huchzermeyer (2003) im histologischen Präparat bei der Stute eine ausgeprägte Faltenbildung nachweisen konnte, gelang die Darstellung von Sekundär- und Tertiärfalten bei den ingraviden Hündinnen nur in 54 % der Fälle. Hier liegt auch ein Unterschied zum weiblichen Rind vor, bei dem eine ausgeprägte Faltenstruktur entlang des gesamten *Canalis cervicis* dokumentiert ist (Mullins und Saacke, 1989). Im Zusammenhang mit der makroskopischen Struktur der caninen Cervix, bei der im Gegensatz zu den Tierarten Pferd, Rind und Schaf (More, 1984) keine Primärfalten gefunden werden können, ist anzunehmen, dass die Ausbildung von Oberflächenstrukturen zur Erhöhung der cervicalen Verschlussfunktion bei dieser Tierart keine große Rolle spielt. Auch Kinozilien an der Oberfläche der Cervicalzellen, die beim Rind, Affen und Kaninchen beschrieben sind (Hafez und Kanagawa, 1972; Chilton et al., 1980; Smollich, 1992; Liebich, 1993), ließen sich nur in 13,8 % der ingraviden Tiere nachweisen und auch nur punktuell und nicht als durchgehende Einrichtung entlang des *Canalis cervicis* wie bei der Stute (Huchzermeyer, 2003).

Hervorzuheben ist der regelmäßige Nachweis von Drüsen im cervicalen Bindegewebe, die nur bei wenigen Haustierarten beschrieben sind. So finden sich Angaben in der Literatur zu Drüsen im cervicalen Bindegewebe bei der Katze (Leiser, 1999), nicht jedoch bei der Stute (Huchzermeyer, 2003) und beim Rind (Schmalz, 1911, Röber, 1914; Wrobel, 1971). Die Aufgabe cervicaler Drüsen wird allgemein in der Sekretion von Schleim, welcher die Grundlage des Cervicalpfropfes bildet, gesehen (el-Naggar und Baksai-Horvath, 1971). Der Nachweis von Drüsen entlang der gesamten Longitudinalachse der Cervix bei der Hündin lässt vermuten, dass diese eine bedeutende Rolle im Rahmen des cervicalen Schlusses innehaben.

Die Darstellung eines ausgeprägten Geflechtes von Venen im Bindegewebe kann als Venenplexus beschrieben werden (Leiser, 1990). Die Ausbildung dieses Venenplexus durch längs und quer verlaufende venöse Gefäße wird außer bei der Hündin (Priedkalns, 1987; Leiser, 1990) bei der Stute beschrieben (Huchzermeyer, 2003). Es ist zu vermuten, dass der Venenplexus bei diesen beiden Tierarten, die eine relativ kurze Cervixlänge aufweisen, die Funktion eines Schwellkörpers übernimmt, der den cervicalen Verschluss unterstützt.

5.2.2 Morphologische Befunde an der caninen Cervix bei ingraviden Hündinnen

5.2.2.1 Cervixepithel

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen des Cervixepithels konnte eine Zunahme der Epithelhöhe von cranial nach caudal gezeigt werden, die sich aber als nicht signifikant darstellte. Die Epithelhöhe betrug, angegeben als geometrischer Mittelwert, im cranialen Abschnitt 18,37 μm , im mittleren Abschnitt 22,07 μm und im caudalen Abschnitt 23,9 μm . Vergleichbare Werte finden sich bei der Stute, wobei die Epithelzellhöhe des einschichtigen hochprismatischen Epithels, angegeben als arithmetischer Mittelwert, von cranial nach caudal von durchschnittlich 16,7 μm auf 18,7 μm stieg. Die Unterschiede stellten sich nur in den Faltentälern signifikant dar (Huchzermeyer, 2003). Angaben zur Cervixepithelhöhe beim Hund finden sich bisher in der Literatur nicht.

Die Anzahl der Epithelzellschichten zeigte eine signifikante Zunahme von der uterusnahen bis zur vaginalbenachbarten Cervixregion. Hypothetisch kann angenommen werden, dass die Zunahme der Schichten an einer gewissen Barrierefunktion bzw. Schutzfunktion beteiligt ist. Diese Ansicht teilt Roszel (1992), der in der hormoninduzierten Zunahme der Epithelschichten im Östrus eine Schutzfunktion vor aufsteigenden vaginalen Infektionen sieht. In der Regel bestand das Epithel aus ein- meist aber aus zwei Schichten kuboidaler Zellen, nahm in einigen Fällen im cranialen Abschnitt einschichtige Gestalt an und war im caudalen Abschnitt zwei- bis mehrschichtig. Dies deckt sich zum Teil mit Angaben von Roszel (1992), welcher das Epithel im Anöstrus, Metöstrus und in der Endometriumsregenerationsphase als zweischichtig, aus kolumnar-kuboidalen Zellen bestehend, und im Proöstrus und Östrus als mehrschichtig beschreibt. Eine Proliferation des Cervixepithels entsprechend dem Vaginalepithel unter Östrogeneinfluss ist somit nicht auszuschließen. In den eigenen Untersuchungen ließ sich ein signifikanter Einfluss der Steroidhormone auf die Anzahl der Zellschichten allerdings nicht nachweisen.

Ein einschichtiges hochprismatisches Epithel konnte abweichend von den Angaben in der Literatur nur im Übergang zum Uterus beobachtet werden (Smollich, 1992; Liebich, 1993). Diese Bereiche wurden dem Uterus zugeordnet und nicht in die Auswertung einbezogen.

5.2.2.2 Bindegewebsschicht

Bei der Untersuchung des Bindegewebes zeigten sich keine Hinweise auf hormon- oder lokalisationsabhängige Veränderungen bei den ingraviden Hündinnen. Die Bindegewebshöhe nahm bei den ingraviden Hündinnen von cranial nach caudal ab, wobei sich die Unterschiede als knapp nicht signifikant herausstellten. Mit der Resorcin-Fuchsin-Färbung gelang durchgehend die Darstellung elastischer Fasern. Diese werden bei Pferd und Schaf ebenfalls vereinzelt im Bindegewebe vorkommend beschrieben (Röber, 1914). Elastische Fasern übernehmen im Gegensatz zu kollagenen Fasern keine Stütz- und Schutzfunktion, sondern bilden die Grundlage elastischer Gewebe. Sie zeichnen sich durch ihre Zug- und Biegeelastizität aus und bilden verzweigte Netze (Liebich, 1993). Diese Eigenschaften sind für das Öffnen und Schließen der Cervix von Bedeutung. Der Nachweis von elastischen Fasern im Cervixgewebe der Hündin fehlte bisher, konnte hier jedoch eindeutig erbracht werden.

5.2.2.3 Drüsen

Bei 84 % der ingraviden Hündinnen ließen sich Drüsen in der *Lamina propria* nachweisen. Diese befanden sich in der Bindegewebsschicht und öffneten sich in einigen Fällen über das Epithel in das Lumen. Die cervicale Zuordnung der Drüsen war eindeutig, da gleichzeitig typisches Cervixepithel vorlag und Drüsen nicht nur in den uterusnahen Anteilen vorkamen. Daher kann ein falsches Ansprechen von uterinen Drüsen als cervicale Drüsen ausgeschlossen werden. Währenddessen die Fläche der Drüsen entlang der Longitudinalachse keine signifikanten Unterschiede zeigte, stellte sich eine signifikante Zunahme der Drüsendichte von caudal nach cranial heraus ($p = 0,0235$).

Cervicale Drüsen werden den Fleischfressern allgemein ohne weitere Differenzierung zwischen Hund und Katze zugesprochen (Smollich, 1992) bzw. bei der Katze beschrieben (Leiser, 1999). El-Banna und Hafez (1972) interpretieren die Drüsen in der Cervix als Ausweitung des uterinen drüsenhaltigen Epithels in den cranialen Cervixabschnitt. Unklar bleibt, warum die Autoren Drüsen, die sich eindeutig in der Cervix befinden, als uterine Drüsen bezeichnen. Eine mögliche Erklärung ist die Tatsache, dass el-Banna und Hafez

(1972) ein drüsenhaltiges Epithel beschrieben, während in den eigenen Untersuchungen die Drüsen eindeutig im Bindegewebe lagen. Die Bindegewebsschicht der Cervix enthält bei Pferd und Rind keine Drüsen (Schmalz, 1911, Röber, 1914; Wrobel, 1971). Auch in den Untersuchungen von Huchzermeyer (2003) finden sich keine Angaben zur Drüsenhaltigkeit des equinen cervicalen Bindegewebes.

Interessanterweise kommt es nicht zu einer Progesteron assoziierten Zunahme der Drüsendichte, aber zu einer Zunahme der mittleren Drüsenfläche, was als Drüsenaktivierung interpretiert werden kann. Es kann vermutet werden, dass durch eine progesteronabhängige Drüsenaktivierung die Schleimproduktion zunimmt und die cervicale Barrierefunktion gegen aufsteigende Infektionen verstärkt wird.

5.2.2.4 Vaskularisierung

In der *Lamina propria mucosae* finden sich zahlreiche venöse Gefäße, die durch die Resorcin-Fuchsin-Färbung von arteriellen Gefäßen zu differenzieren waren. Die Unterscheidung erfolgte anhand der sich in der Resorcin-Fuchsin-Färbung darstellenden *Membrana elastica interna* der Arterien und ihrer dickeren Muskelzellwand (Romeis, 1989; Liebich, 1993). In den tieferen Schichten des Bindegewebes nimmt die Größe der Gefäße zu, währenddessen sich in Epithelnähe vor allem Venolen und einige Arteriolen befinden. Die längs und quer verlaufenden Venen in den tiefen Anteilen der *Lamina propria* lassen die Bezeichnung als Venenplexus gerechtfertigt erscheinen und decken sich mit Beschreibungen in der Literatur. Außer bei der Hündin wird der Venenplexus in der Cervix der Stute beschrieben, die ähnlich dem Hund eine relativ kurze Cervixlänge aufweist (Priedkalns, 1987; Leiser, 1990; Huchzermeyer, 2003). Da bei diesen Tierarten cervicale Verschlussmechanismen wie die *Plicae circulares* beim Rind oder die *Pulvini cervicales* beim Schwein (Seiferle, 1933) fehlen, ist eine Bedeutung des *Plexus cervicales* als Schwellkörper, der den cervicalen Verschluss unterstützt, denkbar. Weiterhin ermöglicht eine ausgeprägte Vaskularisierung eine schnelle lokale humorale und zelluläre Immunantwort.

Die regionalen Unterschiede der Dichte venöser Gefäße blieben ohne statistisch signifikante Bedeutung. Allerdings war eine deutliche Zunahme der mittleren Fläche der venösen Gefäße mit einer Zunahme der Progesteronkonzentration ($p = 0,001$, $r = 0,623$) und einer Abnahme des Östradiol-Progesteronquotienten ($p = 0,016$, $r = -0,546$) zu beobachten. Diese Ergebnisse bestätigen sich gegenseitig, da mit steigender Progesteronkonzentration der Östradiol-

Progesteronquotient abnimmt. Die Dichte der venösen Gefäße ließ sich nicht von den Steroidhormonkonzentrationen beeinflussen.

Hypothetisch kann angenommen werden, dass eine gesteigerte Durchblutung mit einer erhöhten Fähigkeit der Abwehr in der lutealen Phase in Zusammenhang steht. Eine starke Durchblutung führt zu einem schnellen Transport von Abwehrzellen in das Gewebe. Dies stützt die These, dass der cervicale Venenplexus eine Bedeutung für die Abwehr hat.

Die Untersuchung der mittleren Fläche und der Dichte der arteriellen Gefäße ergab keine signifikanten Unterschiede entlang der Longitudinalachse. Es zeigte sich allerdings ein signifikanter Einfluss der Östradiol-17 β -Konzentration auf die mittlere Fläche der arteriellen Gefäße ($p = 0,02$, $r = 0,67$), nicht aber auf die Dichte. Mit steigender Östradiol-17 β -Konzentration nimmt die mittlere Fläche der arteriellen Gefäße zu. Die Zunahme der Arterienfläche kann in Zusammenhang mit dem Einfluss der Östrogene auf die Gefäße stehen. Östrogene haben direkte und indirekte Wirkungen auf die Struktur und Funktion der Gefäßwand und spielen eine gefäßprotektive Rolle im Lipidmetabolismus. Sie bewirken durch verschiedene Mechanismen eine Vasorelaxation und eine Erhöhung der Durchblutung, die bei der Stute (Bollwein et al., 2002), Schaf (Rosenfeld, 1980; Brown und Mattner, 1977) und Meerschwein (Sjoquist et al., 1977) an den arteriellen Gefäßen von Geschlechtsorganen nachgewiesen werden konnte. Vasodilatatorische Funktionen der Östrogene werden über eine Hemmung der Proliferation und Migration glatter Muskelzellen, einer Beschleunigung der Endothelzellregeneration in geschädigten Gefäßabschnitten, die Modulation der Entzündungsantwort durch Hemmung der Zytokinaseaktivität und der Expression von zellulären Adhäsionsmolekülen, der verminderten Freisetzung von zytotoxischem Nitritoxid, die Hemmung der Endothelin-1 Bildung, die Normalisierung der Achetylcholinreaktion, den Kalziumantagonismus an der glatten Gefäßwandmuskulatur und der Hemmung der Thrombozytenaggregation und -adhäsion bewirkt (Joswig, 2000).

5.2.2.5 Eosinophile Granulozyten

Gewebeständige Abwehrzellen im Cervicalgewebe sind unter anderem eosinophile Granulozyten und Mastzellen. Eosinophile Granulozyten werden in der Cervix vor allem im Zusammenhang mit dem Geburtsgeschehen bei Ratte, Maus und Rind beschrieben, währenddessen beim Menschen und beim Schaf die neutrophilen Granulozyten in diesem Zeitraum überwiegen (Junqueira et al., 1980; Robertson et al., 2000; Wehrend et al., 2004b).

Die Funktion der Zellen wird einerseits in der Abwehr und andererseits in der präpartalen Reifung und intra partum im Öffnungsvorgang des Muttermundes durch Beteiligung am Umbau des cervicalen Bindegewebes vermutet.

Bei Tieren außerhalb der Gravidität liegen nur wenige Untersuchungen über das Vorkommen der eosinophilen Granulozyten im Cervicalgewebe vor. Beim ingraviden Rind (Wrobel, 1971) und bei der ingraviden Ratte (Luque et al., 1989) ließen sich diese Zellpopulationen nicht nachweisen, währenddessen Huchzermeyer (2003) auch bei ingraviden Stuten eosinophile Granulozyten beobachtete, deren Dichte entlang der Longitudinalachse des Organs kaum differierte.

Angaben zum Vorkommen von eosinophilen Granulozyten im caninen Cervicalgewebe sind bisher in der Literatur nicht zu finden.

Zur Darstellung der eosinophilen Granulozyten fand die Giemsa-Färbung Verwendung (Romeis, 1989). Die ermittelten Zellzahlen stellten sich bei den ingraviden Hündinnen als sehr gering dar. Sie kamen jedoch regelmäßig vor. Regionale Unterschiede in der Gruppe der ingraviden Hündinnen waren nicht signifikant. Interessant war allerdings, dass der Einfluss der Östradiol-17 β -Konzentration auf die Dichte der eosinophilen Granulozyten nur knapp oberhalb der Signifikanzgrenze von $p \leq 0,05$ lag ($p = 0,06$, $r = -0,373$). Es ist beschrieben, dass die Infiltration von eosinophilen Granulozyten mit steigenden Östrogenwerten zunimmt. Als Grund hierfür nehmen Stygar et al. (2001) die Expression von Östrogenrezeptoren in cervicalen Leukozyten an, die somit einem direkten Östrogeneffekt unterliegen.

Es zeigte sich somit eine positive Beeinflussung der Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten durch Östradiol-17 β , die bereits bei der Ratte beschrieben ist (Lee et al., 1989; Luque et al., 1998). Auch beim Rind und bei der Maus steht die Infiltration mit eosinophilen Granulozyten in Zusammenhang mit erhöhten Östradiol-17 β -Konzentrationen unter der Geburt (Junqueira et al., 1980; Robertson et al., 2000; Wehrend et al., 2004b).

5.2.2.6 Mastzellen

Die Anfärbung der Mastzellen erfolgte mit der Toluidin-Blau-Färbung, die sich anhand der metachromatisch gefärbten Granula deutlich gegen den Hintergrund abhoben.

Mastzellen ließen sich in allen Regionen der Cervix bei ingraviden Hündinnen nachweisen, wobei die regionalen Unterschiede ohne statistische Signifikanz waren. Ein Einfluss der Steroidhormonkonzentrationen auf die Dichte der Mastzellen zeigte sich nicht, sodass über alle Zyklusphasen mit relativ konstanten Zelldichten zu rechnen war.

Wrobel (1971) detektierte Mastzellen im cervicalen Gewebe des Rindes, wobei die höchste Dichte im bindegewebigen Stroma der Primärfalten aufzuweisen war. Eine vermehrte Zahl von Mastzellen im Bereich der Gefäße führten Galeotti et al. (1997) in der bovinen Cervix auf ihre Infiltration des Bindegewebes ausgehend von den Blutgefäßen zurück. Huchzermeyer (2003) stellte entlang der Longitudinalachse in der equinen Cervix eine relativ konstante Mastzellendichte fest, die im Östrus geringgradig höhere Werte annahm. Weiterhin wurden Mastzellen in der Cervix des Meerschweinchens beschrieben, die mit der Freisetzung von Histamin und anderen Mediatoren die Kontraktilität der Cervix beeinflussen (Bytautiene et al., 2002).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass Mastzellen, wie bei Stute und Rind, zu den bindegewebsständigen Abwehrzellen in der Cervix gehören.

5.2.3 Morphologische Befunde an der caninen Cervix bei Hündinnen intra partum

Intra partum kommt es zu einer Dilatation des *Canalis cervicis* als Grundvoraussetzung für die Expulsion der Feten. Störungen in diesem Vorgang gehören zu den Hauptursachen für eine Dystokie, die eine tierärztliche Intervention zur Beendigung der Geburt notwendig machen (Wehrend und Bostedt, 2005). Bisher fehlen Darstellungen zur histologischen Architektur der Cervix intra partum bei den meisten Haussäugetieren. Nur vom Rind liegen derartige Untersuchungen vor (Wehrend et al., 2004a, Wehrend et al., 2004b). In der eigenen Arbeit erfolgte nur eine Deskription der histologischen Architektur ohne statistische Auswertung, da die Gruppengröße mit 5 Tieren als zu gering erschien. Zudem konnten nicht alle Parameter bei allen Tieren erhoben werden. Bei den Hündinnen intra partum ließen sich massive Verletzungen des oberflächlichen Gewebes nachweisen, die die Auswertung aller Parameter in einigen Fällen erschwerten.

Unter der Geburt stellte sich das Epithel in der cranialen Region in allen Fällen einschichtig und in der caudalen Region immer mehrschichtig dar. Diese Unterschiede waren im Vergleich mit den ingraviden Hündinnen deutlich. Eventuell zeigte sich hierdurch eine mit der Cervixreifung verbundene Verringerung der Cervixlänge (Liggins, 1978), sodass in der Veränderung der Anzahl der Zellschichten eventuell ein früherer Übergang zum Uterus bzw. zur Vagina zu sehen ist.

Intra partum war eine Zunahme der Bindegewebshöhe in der mittleren Region zu beobachten.

Weiterhin war unter der Geburt eine deutliche Aufgelockertheit des Bindegewebes festzuhalten. Dies kann in Zusammenhang stehen mit cervicalen Umbaumechanismen unter der Geburt und einem damit verbundenen erhöhten Kollagenmetabolismus (Uldbjerg et al., 1983).

Cervicale Drüsen konnten bei 40 % der Geburtstiere in der *Lamina propria* registriert werden. Es wurde eine Zunahme der mittleren Drüsenfläche in der cranialen und mittleren Region beobachtet, die auf eine erhöhte Aktivität der Cervicaldrüsen im Rahmen des Geburtsgeschehens hinweisen kann. Die Zunahme der mittleren Drüsenfläche unter der Geburt ist nicht von einer Zunahme der Drüsendichte begleitet. Gleichzeitig ist eine abnehmende Tendenz der Drüsendichte von cranial nach caudal festzuhalten.

Bei der Morphometrie der cervicalen Gefäße intra partum konnten in allen Regionen venöse Gefäße sowie in der mittleren und caudalen Region arterielle Gefäße dargestellt werden. Es ergab sich eine deutlich höhere Zahl an venösen Gefäßen in der cranialen Cervixregion, was in Zusammenhang mit einer erhöhten Vaskularisierung unter Geburt stehen kann (Liggins, 1978).

Im Gewebe, welches intra partum gewonnen wurde, ließen sich keine eosinophilen Granulozyten nachweisen. Bei der Hündin liegt eine andere endokrine Situation vor als bei Kuh und Ratte, bei welchen eine massive Infiltration des cervicalen Gewebes mit eosinophilen Granulozyten zum Zeitpunkt der Geburt stattfindet (Junqueira et al., 1980; Robertson et al., 2000; Wehrend et al., 2004b). Diese wird mit dem präpartalen Anstieg der Östrogenwerte in Verbindung gebracht (Luque et al., 1998; Ramos et al., 2000). Im Gegensatz dazu fällt bei der Hündin die Östrogenkonzentrationen zum Zeitpunkt der Geburt ab (Feldman und Nelson, 2003) und erklärt damit eventuell auch die mangelnde Detektion von eosinophilen Granulozyten in den eigenen Untersuchungen bei den Geburtstieren. Untersuchungen von Hoffmann (1993) zufolge unterscheidet sich der Östrogenspiegel nach dem rapiden Abfall im Östrus im weiteren Verlauf zwischen ingraviden und graviden Hündinnen nicht. Vielmehr fällt unmittelbar präpartal der Östrogenspiegel weiter ab und erreicht kurz post partum basale Werte.

Unter der Geburt wurden Mastzellen in allen Regionen der Cervix nachgewiesen. In der mittleren Region zeigte sich die niedrigste Dichte – im Vergleich zu höheren Zellzahlen in der cranialen Region. Die Zellzahlen in der cranialen Region überstiegen die der ingraviden Tiere, allerdings zeigte sich intra partum in der mittleren und caudalen Region eine deutlich niedrigere Mastzellendichte als bei ingraviden Hündinnen.

Bemerkenswert ist festzustellen, dass nach Angaben aus der Literatur bei Mensch (Junqueira et al., 1980) und Ratte (Spanggard et al., 1997) ein Anstieg der cervicalen Mastzellen intra partum nachzuweisen war.

5.3 Offene Fragestellungen

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass periphere Steroidhormonkonzentrationen die mittlere Fläche der Drüsen sowie der venösen und arteriellen Gefäße beeinflussen. Um kausale Zusammenhänge zwischen diesen Parametern zu beweisen, sollten in künftigen Studien im cervicalen Gewebe die entsprechenden Hormonrezeptoren dargestellt und der vermutete Zusammenhang zwischen den Hormonkonzentrationen und den morphologischen Parametern am Modell der ovariectomierten Hündin überprüft werden.

Einen weiteren wichtigen Aspekt stellen Untersuchungen über die morphologischen Veränderungen des Cervixgewebes bei Hündinnen intra partum dar. Die nachgewiesenen Substanzverluste an der Oberfläche führen zu der Frage, wie schnell Regenerationsvorgänge im Puerperium stattfinden. Weitergehende Untersuchungen über die Regeneration der Cervix im Puerperium, wie bereits beim Rind beschrieben (Wehrend, 2003b), stehen bei der Hündin noch aus.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Gewebsarchitektur der caninen Cervix zu beschreiben und zu überprüfen, ob eine Beeinflussung morphologischer Parameter durch die Plasmakonzentrationen von Östradiol-17 β und Progesteron erfasst werden kann. Dazu standen 28 Hündinnen aus dem Patientengut der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Giessen zur Verfügung. Die Tiere verteilten sich auf zwei Gruppen:

- Gruppe 1 beinhaltete 23 ingravide, geschlechtsgesunde Hündinnen, bei denen im Rahmen einer Kastration zur Unterdrückung der Fortpflanzung eine Ovariohysterektomie durchgeführt wurde.
- Gruppe 2 bestand aus 5 Hündinnen intra partum, bei denen aufgrund unterschiedlicher Indikation ein Kaiserschnitt mit anschließender Ovariohysterektomie durchgeführt wurde.

Die Ovariohysterektomie erfolgte einschließlich der Cervix, die nach ihrer Separation in der Medianen geteilt sowie in einen uterusnahen, mittleren und caudalen Abschnitt gegliedert, fixiert und für histologische Untersuchungen aufbereitet wurde. Bei den ingraviden Hündinnen wurden zusätzlich Blutproben entnommen, um die histologischen Befunde in Relation zu den Hormonkonzentrationen von Östradiol-17 β und Progesteron im Plasma setzen zu können.

An den histologischen Präparaten, die mit Hämatoxylin-Eosin, Toluidin-Blau, Giemsa und Resorcin-Fuchsin gefärbt wurden, wurden folgende Parameter erhoben:

- Epithelhöhe
- Anzahl der Epithelzellschichten
- Bindegewebsbreite
- charakteristische Eigenschaften des Bindegewebes wie die Aufgelockertheit des Bindegewebes sowie die Ausdehnung, Struktur und Verteilung der elastischen Fasern
- mittlere Fläche und Dichte der cervicalen Drüsen
- mittlere Fläche und Dichte der venösen und arteriellen Gefäße
- Dichte der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen im Gewebe

Bei den ingraviden Tieren erfolgte eine getrennte Erfassung der Parameter in den 3 Abschnitten des *Canalis cervicis*.

Folgende Ergebnisse ließen sich gewinnen:

- Die Epithelhöhe bei ingraviden Tieren unterscheidet sich im Verlauf des *Canalis cervicis* nicht signifikant und wird nicht durch die peripheren Hormonkonzentrationen signifikant beeinflusst.
- Bei den Hündinnen intra partum lassen sich massive Beschädigungen des Oberflächenepithels nachweisen.
- Die Anzahl der Epithelzellschichten nimmt bei den ingraviden Hündinnen von cranial nach caudal entlang des *Canalis cervicis* zu ($p = 0,0001$).
- Die Bindegewebshöhe entlang der Longitudinalachse des Organs zeigt keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Lokalisationen. Eine Beeinflussung dieses Parameters durch die Hormonkonzentrationen wird statistisch nicht nachgewiesen.
- Im Bindegewebe der Cervix lassen sich regelmäßig elastische Fasern darstellen.
- Cervicale Drüsen lassen sich in beiden Gruppen regelmäßig darstellen. Ihre Dichte ist bei den ingraviden Hündinnen im uterusnahen Teil der Cervix am höchsten ($p = 0,0235$). Die mittlere Drüsenfläche ist positiv mit einer steigenden Progesteronkonzentration korreliert ($p = 0,014$, $r = 0,667$).
- In den tiefen Bindegewebsschichten lassen sich viele venöse Gefäße nachweisen. Die mittlere Fläche der venösen Gefäße ist signifikant mit steigenden Progesteronkonzentrationen korreliert ($p = 0,001$; $r = 0,623$).
- Mit steigender Östradiol-17 β -Konzentration nimmt die mittlere Fläche der arteriellen Gefäße signifikant zu ($p = 0,02$; $r = 0,67$).
- Eosinophile Granulozyten lassen sich nur vereinzelt im Cervicalgewebe darstellen.
- Mastzellen sind im Vergleich zu den eosinophilen Granulozyten regelmäßig zu finden.

Die Ergebnisse wurden dahingehend interpretiert, dass die bestimmten morphologischen Charakteristika als Bestandteil der funktionellen Barriere zwischen Vagina und Uterus aufzufassen sind.

Die Zunahme der Epithelzellschichten von cranial nach caudal kann an einer gewissen Schutzfunktion vor aufsteigenden vaginalen Infektionen beteiligt sein. Dies wird ebenso von Roszel (1992) postuliert, der eine hormoninduzierte Zunahme der Epithelzellschichten im Östrus beobachtete.

Der Nachweis der zahlreichen venösen Gefäße in den tiefen Bindegewebsschichten unterstützt die Hypothese, dass bei der Hündin ein Venenplexus im Sinne eines

Verschlussmechanismus existiert. Steigende Progesteronwerte führen zu einer erhöhten venösen Durchblutung, was eine Verstärkung des cervicalen Verschlusses im Metöstrus bedingt.

Die Zunahme der Arterienfläche lässt sich durch den durchblutungsfördernden Effekt der Östrogene in den Geschlechtsorganen erklären.

Die zunehmende Drüsenfläche mit steigender Progesteronkonzentration lässt vermuten, dass die cervicalen Drüsen unter Gestageneinfluss verstärkt Cervicalsekret produzieren. Dieser Schleim könnte, wie bei anderen Tierarten beschrieben, zu einer Bildung des cervicalen Schleimpfropfes in der Lutealphase beitragen.

Zudem gelang es erstmals, die cervicale Gewebsarchitektur bei Hündinnen intra partum lichtmikroskopisch darzustellen. Hervorzuheben ist, dass sich intra partum keine Infiltration des cervicalen Bindegewebes mit eosinophilen Granulozyten, wie bei der Kuh und Ratte beschrieben, nachweisen lässt.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass in der vorliegenden Arbeit bereits bekannte Informationen bestätigt und ergänzt werden konnten. Zudem gelang es, erstmalig einen signifikanten Zusammenhang zwischen bestimmten morphologischen Parametern und der Steroidhormonkonzentration im Plasma nachzuweisen.

7 Summary

The purpose of the study was to describe the tissue structure of the canine cervix and to determine, whether an influence of morphological parameters via blood plasma concentrations of estradiol-17 β and progesterone can be determined. 28 bitches were available for the study. All of these were patients of the „Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Giessen“. The animals were divided into two groups:

- Group 1 contained 23 nongravid, intact and healthy bitches, which were targeted for ovariectomy for the purpose of castration with regards to reproductive ability.
- Group 2 consisted of 5 intra partum bitches, which required caesarean sections for various indications, with a subsequent ovariectomy.

The ovariectomy included removal of the cervix in its entirety. The cervix was subsequently divided along its median and segmented into a uterus proximate, middle and caudal section. Each section was fixed and prepared for subsequent histological examination. In addition, blood samples were taken from the nongravid bitches, in order to set the histological results in relation to the plasma concentrations of estradiol-17 β and progesterone. The histological samples were stained with haematoxylin-eosin, toluidine-blue, giemsa and resorcin-fuchsin and examined according to the following parameters:

- epithelial layer thickness
- number of epithelial layers
- connective tissue layer thickness
- characteristics of the connective tissue, such as tissue density, extension, structure and distribution of the elastic fibres
- average area and density of the cervical glands
- average area and density of the venous and arterial blood vessels
- tissue density of eosinophil granulocytes and mast cells

In the group of the nongravid bitches the above parameters were determined separately for the three sections of the *canalis cervicis*.

The following results were obtained:

- The epithelial layer thickness in nongravid animals varies along the *canalis cervicis* only insignificantly and is not significantly influenced by peripheral hormone concentrations.
- Intra partum bitches show massive damage of the surface epithelial layer.
- The number of epithelial cellular layers in nongravid bitches increases from cranial to caudal along the *canalis cervicis* ($p = 0.0001$).
- The connective tissue layer thickness along the organ's longitudinal axis shows no statistically relevant differences among the different sections. Hormonal influence on this parameter could not be determined.
- Within the cervical connective tissue, elastic fibres can be shown on a regular basis.
- Cervical glands can be determined regularly in both groups. Their density is at its highest in nongravid bitches within the cranial section of the cervix ($p = 0.0235$). The average gland area is positively correlated to progesterone concentrations ($p = 0.014$, $r = 0.667$).
- In the deeper layers of the connective tissue, numerous venous blood vessels can be observed. The average area of the venous blood vessels shows a significant correlation to rising progesterone levels.
- With increasing estradiol-17 β concentration, the average area of the arterial vessels increases significantly ($p = 0.02$; $r = 0,67$).
- Eosinophil granulocytes can be shown only infrequently within the cervical tissue.
- Mast cells, in contrast to eosinophil granulocytes, can be found frequently.

The results were interpreted to be an indication that the different morphological characteristics are a part of the functional barrier between vagina and uterus.

The increase of epithelial cell layers from cranial to caudal could be of significance as a protection against migrating vaginal infections. Roszel (1992) who observed a hormonally induced increase of epithelial cellular layers during the oestrus also postulates this thesis.

The observation of numerous venous blood vessels in the deeper connective tissue layers strengthens the hypothesis that in bitches a venous plexus in the sense of a closing mechanism exists. Rising progesterone levels cause an increased venous blood circulation that in turn causes an increased cervical closure during the metestrus.

The blood circulation enhancing effects of estrogen in the sexual organs can explain the increase of the average area of the arterial vessels.

The increase in glandular area with rising progesterone concentration allows the speculation that the cervical glands under the influence of gestagen produce an increased amount of cervical mucous. This mucous, as described for other species, could contribute to the cervical mucous plug in the luteal phase.

In addition, for the first time, it has been possible to show the cervical tissue architecture of bitches intra partum with optical microscopy. It should be stressed that intra partum no infiltration of the cervical connective tissue with eosinophil granulocytes, as has been described for cows and rats, could be proven.

In summary, one can conclude, that in this study already known and available information could be confirmed and extended and for the first time it could be shown a significant relationship between selected morphological parameters and the steroid hormone concentration within the blood plasma.

8 Anhang

Im Folgenden werden die Zusammensetzungen der verwendeten Lösungen und Puffer angegeben.

8.1 Lagerung und Fixierung des Gewebes

8.1.1 Neutral gepuffertes Formol nach Lillie:

Formol (40%) (Merck)	500,0 ml
$\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ (Merck)	20,0 g
Na_2HPO_4 (Merck)	32,5 g
A.dest.	ad 5000,0 ml

Die Lösung hat den pH-Wert 7,0.

8.1.2 Natriumphosphat-Puffer (0,1M; pH 7,2)

Lösung 1 (0,1m):

$\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ (Merck)	13,8 g
A. dest.	ad 1000,0 ml

Lösung 2 (0,1m):

Na_2HPO_4 (Merck)	17,8 g
A. dest.	ad 1000,0 ml

Gebrauchslösung:

Lösung 1:	28,3 ml
Lösung 2:	71,7 ml

8.2 Herstellung der Gewebeschnitte

8.2.1 3-Aminopropyltriethoxy-Silan 2% (APES):

APES (Merck)	10,0 ml
Aceton, reinst (Merck)	490,0 ml

8.3 Färbelösungen

8.3.1 Hämatoxilin-Eosin-Färbung

Hämatoxilin nach Mayer:

Hämatoxilin (Merck)	1 g
A. bidest.	1000 ml
	lösen unter schütteln
NaSO ₃	0,2 g
Kalialaun (Merck)	50,0 g
Cloralhydrat	50,0 g
Zitronensäure	1 g

2-3 Tage stehen lassen, dann filtrieren

Eosin:

Eosin G (Merck)	1 g
A. dest.	100 ml
Eisessig (Merck)	1 Tropfen

8.3.2 Toluidin-Blau-Färbung

Puffer nach Soerensen:

Lösung 1:

KH ₂ PO ₄ (Merck)	9,078 g
A. dest.	ad 1000 ml

Lösung 2:

Na_2HPO_4 (Merck)

2,969 g

A. dest.

ad 250 ml

Gebrauchslösung:

Lösung 1:

1,2 ml

Lösung 2:

ad 200 ml

Toluidin-Blau O Färbelösung:

Toluidin O (Chroma)

0,2 g

Puffer nach Soerensen

200 ml

8.3.3 Giemsa-Färbung

Giemsa- Lösung-R (Chroma)

15 ml

A. dest.

ad 300 ml

Einstellung des pH-Wertes auf pH 4,5 durch Titration mit

HCl 0,2 %ig (Baker, 32 %ig, verdünnt)

bzw.

NaOH 1 %ig, 0,25 mol/l (Baker)

Verwendung eines pH-Meters, ad 110 pH (Amarell Electronic)

8.3.4 Resorcin-Fuchsin-Färbung:

Elastin-Fuchsin-Lösung nach Weigert (Chroma)

Kernechtrot:

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$

5 g

A. dest.

ad 100ml

lösen

Kernechtrot (Fluka)

0,1 g

erkalten lassen, filtrieren

9 Literaturverzeichnis

- Andersen, K. (1975)
Insemination with frozen dog semen based on a new insemination technique
Zuchthygiene, 10, 1-4
- Arbeiter K, (1993)
Kap.: Pathologie der Geburt
In: Richter, J., Götze, R.: Tiergeburtschilfe, Grunert, E., Arbeiter, K. (Hrsg.), 4. Aufl.,
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 330-351
- Arnold, S. (2000)
Weiblicher Geschlechtsapparat
In: Niemand, G., Suter, F. (Hrsg.): Praktikum der Hundeklinik, 9. Aufl.,
Parey Verlag, Stuttgart, 903-955
- Aspen, R.M. (1987)
The importance of a slit-like lumen cross-section for the mechanical function of the
cervix
Br. J. Obstet. Gynaecol., 94, 915-916
- Berchtold, M. (1997)
Kap. 21: Gynäkologie
In: Freudiger, U., Grünbaum, E.-G., Schimke, E. (Hrsg.): Klinik der
Hundekrankheiten, 2. Aufl.,
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 625-663
- Bienkiewicz, A. (1995)
The influence of prostaglandins, cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors on
collagen concentration in the rat uterine cervix
Horm. Metab. Res., 27, 79-82
- Bollwein, H., Weber, F., Kolberg, B., Stolla, R. (2002)
Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares
Theriogenology, 57 (8), 2129-2138
- Bouchard, G.F., Solorzano, N., Concannon, P.W., Youngquist, R.S., Bierschwal, C.J. (1991)
Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology and
elisa for progesterone
Theriogenology, 35, 603-611
- Bollwein, H., Weber, A.F., Church, M.K. (1995)
Mast cells and basophils: their role in initiating and maintaining inflammatory
responses
In: Holgate, S.T. (Hrsg.): Immunopharmacology of the respiratory system,
Academic Press, New York, 53
- Brown, B.W., Mattner, P.E. (1977)
Capillary blood flow in the genital tracts of conscious ewes: cyclic changes and the
effect of ovarian hormones
J. Endocrinol., 74 (2), 185-191

- Brown, R.M. (1992)
An update of artificial insemination with fresh, chilled and frozen semen
Probl. Vet. Med., 4 (3), 445-452
- Bryman, I., Norström, A., Lindblom, B. (1985)
Has cervical smooth muscle any physiological role in the human?
Acta Physiol. Hung., 65, 327-330
- Bollwein, H., Weber, A., Lindblom, B. (1985)
Has cervical smooth muscle any physiological role in the human?
Acta Physiol. Hung., 65 (3), 327-330
- Burger, L.L., Sherwood, O.D. (1998)
Relaxin increases the accumulation of new epithelial and stromal cells in the rat cervix during the second half of pregnancy
Endocrinology, 139 (9), 3984-3995
- Bytautiene, E., Vedernikov, Y.P., Saade, G.R., Romero, R., Garfield, R.E. (2002)
Endogenous mast cell degranulation modulates cervical contractility in the guinea pig
Am. J. Obstet. Gynecol., 186 (3), 438-445
- Cain, J.L., Cain, G.R., Feldman, E.C., Lasley, B.L., Stabenfeldt, G.H. (1988)
Use of pulsatile intravenous administration of gonadotropin-releasing hormone to induce fertile estrus in bitches
Am. J. Vet. Res., 49, 1993-1996
- Cairns, J.A., Walls, A.F. (1997)
Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts
J. Clin. Invest., 99, 1313-1321
- Caprol, D., Dallot, E., Bienkiewicz, A., el Alj, A., Sedbon, E., Cedard, L. (1990)
Cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors – induced changes in the distribution of glycosaminoglycans in the pregnant rat uterine cervix
Prostagland., 39, 515-523
- Chilton, B.S., Nicosia, S.V., Sowinski, J.M., Wolf, D.P. (1980)
Isolation and characterization of rabbit endocervical cells
J. Cell Biol., 86 (1), 172-180
- Chilton, B.S., Sowinski, J.M., Barnes, H., McAllister, C.J. (1986)
Rabbit endocervical epithelium: Morphometric analysis of secretory cell populations
Anat. Rec., 216 (4), 516-520
- Concannon, P. W., Hansel, W., McEntee, K. (1977)
Changes in LH, progesterone and sexual behaviour with preovulatory luteinization in the bitch
Biol. Reprod., 17, 604-613

- Concannon, P.W. (1980)
Effects of hypophysectomy and of LH administration on luteal phase plasma progesterone levels in the beagle bitch
J. Reprod. Fertil., 58 (2), 407-410
- Concannon, P.W. (1984)
Endocrinology of canine estrous cycles, pregnancy and parturition
Proc. Ann. Meeting Soc. Theriogenology, 1-24
- Concannon, P.W. (1986)
Canine pregnancy and parturition
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., 16 (3), 453-475
- Concannon, P.W. (1987)
The physiology of ovarian cycles, pregnancy and parturition in the domestic dog
Proc. Ann. Meeting Soc. Theriogenology, 159
- Concannon, P.W., Isaman, L., Frank, D.A., Michel, F.J., Currie, W.B. (1988)
Elevated concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 alpha in maternal plasma during prepartum luteolysis and parturition in dogs (*Canis familiaris*)
J. Reprod. Fertil., 84 (1), 71-77
- Concannon, P.W., Mc Cann, J.P., Temple, M. (1989)
Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog
J. Reprod. Fertil. Suppl., 39, 3-25
- Concannon, P.W., Yeager, A.E. (1990)
Endocrine, ultrasonographic, radiographic and clinical changes during pregnancy, parturition and lactation in dogs
Proc. Ann. Meeting Soc. Theriogenology, 197
- Concannon, P.W. (1993)
Biology of gonadotropin secretion in adult and pubertal female dogs
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 3-27
- Concannon, P.W., Lasley, B., Vanderlip, S. (1997)
LH release, induction of oestrus and fertile ovulations in response to pulsatile administration of GnRH to anoestrous dogs
J. Reprod. Fertil. Suppl., 51, 41-54
- Coughlan, B.M., Skinner, G.R. (1977)
Immunoglobulin concentrations in cervical mucus in patients with normal and abnormal cervical cytology
Br. J. Obstet. Gynaecol., 84 (2), 129-134
- De Coster, R., Beckers, J.F., Beerens, D., de Mey, J. (1983)
A homologous radioimmunoassay for canine prolactin-plasma levels during the reproductive cycle
Acta Endocrinol., 103 (4), 473-478

- Di Loreto, C., Beltrami, C.A., de Nictolis, M., Casaccia, R., Stramazzotti, D. (1989)
Immunohistochemical characterization and distribution of Langerhans' cells in normal epithelium of the uterine cervix
Basic Appl. Histochem., 33 (1), 39-48
- Dixon, W.J. (1993)
BMDP Statistical Software Manual, Vol.1 and 2
University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London
- Doe, W.F. (1982)
Immunological aspects of the gut
In: Lachmann, P.J., Petersen, D.K. (Hrsg.): Clinical Aspects of Immunology
Blackwell Science, UK, 985-1010
- Downing, J., Sherwood, O.D. (1986)
The physiological role of relaxin in the pregnant rat, IV: The influence of relaxin on cervical collagen and glycosaminoglycans
Endocrinology, 118, 471-479
- Edqvist, L.E., Johansson, E.D., Kasstrom, H., Olsson, S.E., Richkind, M. (1975)
Blood plasma levels of progesterone and oestradiol in the dog during the oestrous cycle and pregnancy
Acta Endocrinol. (Copenh.), 78 (3), 554-564
- Edwards, J.N., Morris, H.B. (1985)
Langerhans' cells and lymphocyte subsets in the female genital tract
Br. J. Obstet. Gynaecol., 92, 974-982
- Eggert-Kruse, W. (1997)
Funktionen der Cervix uteri für die Fertilität
Gynäkol., 30, 53-68
- Einspanier, A., Bunck, C., Salpigtidou, P., Marten, A., Fuhrmann, K., Hoppen, H.O., Günzel-Apel, A.R. (2002)
Relaxin: ein wichtiger Graviditätsindikator bei einer Hündin
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 109 (1), 8-12
- Ekman, G., Forman, A., Ulmsten, U., Wingerup, L. (1980)
Termination of pregnancy in patients with missed abortion and intrauterine dead fetuses by a single intracervical application of prostaglandin E₂ in viscous gel
Zentralbl. Gynäkol., 102 (4), 219-222
- Ekman, G., Malmström, A., Ulbjerg, N., Ulmsten, U. (1986)
Cervical Collagen: An important regulator of cervical function in term labor
Obstet. Gynecol., 67 (5), 633-636
- El-Banna, A.A., Hafez, E.S. (1972)
The uterine cervix in mammals
Am. J. Obstet. Gynecol., 112 (1), 145-164

- Ellwood, D.A., Anderson, A.B.M., Mitchell, M.D., Murphy, G., Turnbull, A.C. (1981)
 Kap. 5: Prostanoids, collagenase and cervical softening in the sheep
 In: Ellwood, D.A., Anderson, A.B.M. (Hrsg.): The cervix in pregnancy and labour
 Churchill Livingstone, Oxford, 57-73
- El-Naggar, M.A., Baksai-Horvath, E. (1971)
 Studies of physical and chemical properties of bovine cervical mucus during pregnancy
 Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 21 (2), 245-253
- England, G.C., Allen, W.E. (1991)
 Repeatability of events during spontaneous and gonadotropin-induced oestrus in bitches
 J. Reprod. Fertil., 93 (2), 443-448
- Fawcett, D.W. (1994)
 5. Connective Tissue
 In: Bloom, Fawcett (Hrsg.): A textbook of histology, 12. Aufl.,
 Chapman & Hall, 133-167
- Feldman, E.C., Nelson, R.W. (2003)
 Kap. 19: Ovarian cycle and vaginal cytology
 In: Canine and Feline Endocrinology and Reproduction
 W.S. Saunders Company, 752-774
- Fitzpatrick, R.J., Liggins, G.C. (1980)
 Effects of prostaglandins on the cervix of pregnant women and sheep
 In: Naftolin, F., Strubblefield, P.G. (Hrsg.): Dilatation of the uterine Cervix
 Raven Press, New York, 287-300
- Fox, H. (1993)
 Kap. 10: Immunocompetent cells in the cervix and vagina
 In: Griffin, P.D., Johnson, P.M. (Hrsg.): Local immunity in reproductive tract tissues,
 Oxford University Press, 177-186
- Galabova, G., Egerbacher, M., Aurich, J.E., Leitner, M., Walter, I. (2003)
 Morphological changes of the endometrial epithelium in the bitch during metoestrus and anoestrus
 Reprod. Domest. Anim., 38 (5), 415-420
- Galeotti, M., Belluzzi, S., Volpatti, D., Bergonzi, M.L., D'Agaro, E.D., Volpetti, L.A. (1997)
 Evaluation of mast cells in calf and helper uteri
 Theriogenology, 48, 1301-1311
- Gerres, S. (1991)
 Untersuchungen zur Bedeutung von Progesteron als Regelfaktor bei der Entstehung der Pseudogravidität der Hündin
 Diss. med. vet., Giessen

- Gregory, S.P., Holt, P.E., Parkinson, T.J., Wathes, C.M. (1999)
Vaginal position and length in the bitch: relationship to spaying and urinary incontinence
J. Small Anim. Pract., 40 (4), 180-184
- Hafez, E.S., Kanagawa, H. (1972)
Ciliated epithelium in the uterine cervix of the macaque and rabbit
J. Reprod. Fertil., 28 (1), 91-94
- Harkness, M.L.R., Harkness, R.D. (1959)
Changes in the physical properties of the uterine cervix of the rat during pregnancy
J. Physiol., Lond., 148, 524-547
- Hayer, P., Günzel-Apel, A.R., Luerssen, D., Hoppen, H.O. (1993)
Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 93-100
- He, S., Peng, Q., Walls, A.F. (1997)
Potent induction of neutrophil and eosinophil-rich infiltrate in vivo by human mast cell tryptase: selective enhancement of eosinophil recruitment by histamine
J. Immunol., 157, 6216-6225
- Hettling, P. (1998)
Einsatz einer Kombinationsbehandlung eines synthetischen PGF_{2α}-Analogons und eines Dopaminagonisten zum Abbruch ungewollter Gravidität bei Hündinnen. Eine Studie an sechs Fällen.
Tierärztl. Prax. Ausg. K, 26 (1), 37-39
- Hibbs, M.S., Mainardi, C.L., Kang, A.H. (1982)
Type-specific collagen degradation by eosinophils
Biochem. J., 207, 621-624
- Hillier, K., Wallis, A.F. (1981)
11. Prostaglandins, steroids and the human cervix
In: Ellwood, D.A., Anderson, A.B.M. (Hrsg.): *The cervix in pregnancy and labour*
Churchill Livingstone, Oxford, 144-162
- Hoffmann, B., Höveler, R., Hasan, S.H., Failing, K. (1992)
Ovarian and pituitary function in dogs after hysterectomy
J. Reprod. Fertil., 96, 837-845
- Hoffmann, B. (1993)
Kap.: Endokrinologie der Hochträchtigkeit, während des Partus und im Puerperium,
In: Richter, J., Götze, R.: *Tiergeburtshilfe*, Grunert, E., Arbeiter, K. (Hrsg.), 4. Aufl., Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 111-120
- Hoffmann, B. (1994)
Kap. 17: Gravidität, Geburt und Puerperium
In: Döcke, F. (Hrsg.): *Veterinärmedizinische Endokrinologie*, 3. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 509-546

- Hoffmann, B., Riesenbeck, A., Klein, R. (1996)
Reproductive endocrinology of bitches
Anim. Reprod. Sci., 42, 275-288
- Höveler, R. (1991)
Untersuchungen zur endokrinen Kontrolle der Ovarfunktion bei der graviden und ingraviden Hündin
Diss. med. vet., Giessen
- Huchzermeyer, S. (2003)
Funktionelle und morphologische Studien über die equine Zervix im Stadium der Ingravidität
Diss. med. vet., Giessen
- Huchzermeyer, S., Wehrend, A., Bostedt, H. (2005)
Histomorphology of the equine cervix
Anat. Histol. Embryol., 34, 38-41
- Huszar, G., Caprol, D., Naftolin, F. (1986)
The relationship between myometrial contractility and cervical maturation in pregnancy and labor
In: Huszar, G. (Hrsg.), The Physiology and Biochemistry of the Uterus in Pregnancy and Labor
Fla: CRC Press, Boca Raton
- Isaacson, P., Wright, D.H. (1984)
Extranodal malignant lymphoma arising from mucosa-associated lymphoid tissue
Cancer, 53, 2515-2524
- Jain, N.C. (1986)
Schalm's Veterinary Hematology, 4. Aufl.,
Verlag Lea und Febiger, Philadelphia, 731-755
- Jain, N.C. (1993)
Kap. 14: The eosinophils; Kap. 15: The Basophils and Mast cells
In: Jain, N.C. (Hrsg.): Essentials of veterinary haematology, 1. Aufl.,
Verlag Lea und Febiger, Philadelphia , 247-265
- Jeffcoate, I.A. (1993)
Endocrinology of anoestrous bitches
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 69-76
- Johnston, S.D., Root Kustritz, M.V. (2001)
Kap.1: Sexual differentiation and normal anatomy of the bitch
Kap.10: Disorders of the canine ovary
In: Canine and feline Theriogenology
Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1-15; 193-205

- Jones, G.E., Boyns, A.R., Cameron, E.H.D., Bell, E.T., Christie, D.W., Parkes, M.F. (1973)
Plasma estradiol, luteinizing hormone and progesterone during the oestrus cycle in the beagle bitch
J. Endocrinol., 57, 331-332
- Joswig, M. (2000)
Wirkungen von Östrogenen auf die Gefäßwand: zelluläre und molekulare Mechanismen
Z. Aerztl. Fortbild. Qualitätssich., 94, 189-193
- Junqueira, L.C.U., Zugaib, M., Montes, G.S., Toledo, O.M.S., Krisztan, R.M., Shigihara, M. (1980)
Morphologic and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilation
Am. J. Obstet. Gynecol., 138 (3), 273-281
- Kainer, R.A., Pineda, M.H. (1973)
Dorsal median postcervical fold in the canine vagina: a pseudocervix
Anat. Rec., 175, 352
- Katayama, M.L., Federico, M.H., Brentani, R.R., Brentani, M.M. (1998)
Eosinophil accumulation in rat uterus following estradiol administration is modulated by laminin and its integrin receptors
Cell Adhes. Commun., 5 (5), 409-424
- Kelly, R.W. (1994)
Pregnancy maintenance and parturition: the role of prostaglandin in manipulating the immune and inflammatory response
Endocr. Rev., 15 (5), 684-706
- Klonisch, T., Kauffold, J., Steger, K., Bergmann, M., Leiser, R., Fischer, B., Hombach-Klonisch, S. (2001)
Canine relaxin-like factor: unique molecular structure and differential expression within reproductive tissues of the dog
Biol. Reprod., 64 (2), 442-450
- Koob, T.J., Jeffrey, J.J., Eisen, A.Z., Bauer, E.A. (1980)
Hormonal interactions in mammalian collagenase regulation. Comparative studies in human skin and rat uterus
Biochem. Biophys. Acta, 629 (1), 13-23
- Lacy, P., Moqbel, R. (2001)
Immune effector functions of eosinophils in allergic airway inflammation
Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol., 1 (1), 79-84
- Ladkin, A. (1979)
Urethral ectopia and anomalous cervix in a dog
Vet. Rec., 104, 555

- Lee, Y.H., Howe, R.S., Sha, S.J., Teuscher, C., Sheehan, D.M., Lyttle, C.R. (1989)
 Estrogen regulation of an eosinophil chemotactic factor in the immature rat uterus
Endocrinology, 125 (6), 3022-3028
- Leedy, M.G. (1988)
 Hormonal and neural control of sexual behavior in dogs and cats
 In: Sitsen, J.M.A.(Hrsg.): *Handbook of Sexology: The Pharmacology and Endocrinology of Sexual Function*, Vol 6, Amsterdam, Elsevier, 231
- Leiser, R. (1990)
 Weibliche Geschlechtsorgane
 In: Mosimann, W., Kohler, K. (Hrsg.): *Zytologie, Histologie und Mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere*, 1. Aufl.,
 Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 232-248
- Leiser, R. (1999)
 Weibliche Geschlechtsorgane
 In: Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (Hrsg.), *Lehrbuch der Anatomie der Haussäugetiere Bd. II, Eingeweide*, 8. Aufl.,
 Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 393-434
- Leitner, M., Aurich, J.E., Galabova, G., Aurich, C., Walter, I. (2003)
 Lectin binding patterns in normal canine endometrium and in bitches with pyometra and cystic endometrial hyperplasia
Histol. Histopathol., 18 (3), 787-95
- Leppi, T.J., Repesh, L.A., Furcht, L.T., Bartz, P.J., Holt, G.E. (1982)
 Immunohistochemical localization of fibronectin in human and rat uterine cervixes
J. Histochem. Cytochem., 30 (5), 413-417
- Liebich, H.-G. (1993)
 Kap. XIV: Weibliche Geschlechtsorgane
 In: *Funktionelle Histologie, Farbatlas und Kurzlehrbuch der mikroskopischen Anatomie der Haussäugetiere*, 2.Aufl.,
 Verlag Schattauer, Stuttgart, New York, 255-272
- Liggins, G.C. (1978)
 Ripening of the cervix
Semin. Perinatol., 2 (3), 261-271
- Lillie, R.D., Fullmer, H.M. (1976)
 Histopathologic technic and practical histochemistry
 The Blakiston Company, New York
- Linde-Forsberg, C., Forsberg, M. (1989)
 Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination with fresh and frozen semen
J. Reprod. Fertil. Suppl., 39, 299-310

- Linde-Forsberg, C., Forsberg, M. (1993)
Results of 527 controlled artificial inseminations in dogs
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 313-323
- Lindsay, F.E.F., Concannon, P.W. (1986)
Normal canine vaginoscopy
In: Burke, T.J. (Hrsg.): Small animal reproduction and infertility
Verlag Lea und Febiger, Philadelphia, 112-120
- Lübke, A. (1997)
Befunderhebung an der Portio vaginalis cervicis sowie vergleichende Untersuchungen der vaginalen und uterinen Zytologie und Keimflora im Verlauf des Sexualzyklus der Hündin
Diss. med. vet., Hannover
- Luque, E.H., Montes, G.S. (1989)
Progesterone promotes a massive infiltration of the rat uterine cervix by the eosinophilic polymorphonuclear leukocytes
Anat. Rec., 223, 257-265
- Luque, E.H., Ramos, J.G., Rodriguez, H.A., Munoz de Toro, M. (1996)
Dissociation in the control of cervical eosinophilic infiltration and collagenolysis at the end of pregnancy or after pseudopregnancy in ovariectomized steroid-treated rats
Biol. Reprod., 55, 1206-1212
- Luque, E.H., Bassani, J.G., Ramos, M., Maffini, A., Canal, A., Kass, S., Caldini, E.G., Ferreira, J.R., Munoz de Toro, M., Montes, G.S. (1997)
Leukocyte infiltration and collagenolysis in cervical tissue from intra partum sheep
Zentralbl. Vet. Med. A., 44, 501-510
- Luque, E.H., Munoz de Toro, M., Ramos, J.G., Rodriguez, H.A., Sherwood, O.D. (1998)
Role of relaxin and estrogen in the control of eosinophilic invasion and collagen remodeling in rat cervical tissue at term
Biol. Reprod., 59, 795-800
- Mackler, A.M., Iezza, G., Akin, M.R., McMillan, P., Yellon, S.M. (1999)
Makrophage trafficking in the uterus and cervix precedes parturition in the mouse
Biol. Reprod., 61 (4), 879-883
- McNamara, P.S., Harvey, H.J., Dykes, N. (1997)
Chronic vaginocervical prolapse with visceral incarceration in a dog
J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 33 (6), 533-536
- Meyers-Wallen, V.N. (1993)
Genetics of sexual differentiation and anomalies in dogs and cats
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 441-452
- Milks, L.C., Conyers, G.P., Cramer, E.B. (1986)
The effect of neutrophil migration on epithelial permeability
J. Cell Biol., 103, 2729-2738

- Monniaux, D., Huet, C., Besnard, N., Clement, F., Mariana, J.C., Bosc, M., Monget, P. (1997)
Follicular growth and ovarian dynamics
J. Reprod. Fertil. Suppl., 51, 3-23
- More, J. (1984)
Anatomy and histology of the cervix uteri of the ewe: new insights
Acta Anat., 120 (3), 156-159
- Morris, H.H.B., Gatter, K.C., Stein, H., Mason, D.Y. (1983)
Langerhans' cells in human cervical epithelium: an immunohistological study
Br. J. Obstet. Gynaecol., 90, 400-411
- Mosimann, W., Kohler, T. (1990)
Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere,
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 232-248
- Mullins, K.J., Saacke, R.G. (1989)
Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to
mucus secretion and sperm transport
Anat. Rec., 225 (2), 106-117
- Nelson, R.W., Feldman, E.C., Stabenfeldt, G.H. (1982)
Treatment of canine pyometra and endometritis with prostaglandin F-2 alpha
J. Am. Vet. Med. Assoc., 181 (9), 899-903
- Nothling, J.O., Volkmann, D.H. (1993)
Effect of addition of autologous prostatic fluid on the fertility of frozen-thawed dog
semen after intravaginal insemination
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 329-333
- Oesterling, T.O., Morozowich, W., Roseman, T.J. (1972)
Prostaglandins
J. Pharm. Sci., 61 (12), 1861-1895
- Oettel, M. (1996)
Endokrinpharmakologie
In: Frey, H.H., Löscher, W. (Hrsg.), Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für
die Veterinärmedizin
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 370-423
- Okkens, A.C., Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Willems, A.H. (1985a)
Evidence for the non-involvement of the uterus in the lifespan of the corpus luteum in
the cyclic dog
Vet. Q., 7 (3), 169-173
- Okkens, A.C., Bevers, M.M., Dieleman, S.J., Willems, A.H. (1985b)
Shortening of the interoestrous interval and the lifespan of the corpus luteum of the
cyclic dog by bromocriptine treatment
Vet. Q., 7 (3), 173-176

- Okkens, A.C., Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Lubberink, A.A., Willemse, A.H. (1986)
Influence of hypophysectomy on the lifespan of the corpus luteum in the cyclic dog
J. Reprod. Fertil., 77 (1), 187-192
- Okkens, A.C., Bevers, M.M. (1990)
Evidence for prolactin as the main luteotropic factor in the cyclic dog
Vet. Q., 12, 193-201
- Olson, P.N., Bowen, R.A., Behrendt, M.D., Olson, J.D., Nett, T.M. (1982)
Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus
Biol. Reprod., 27, 1196-1206
- Onclin, K., Verstegen, J., Silva, L.D.M., Concannon, P. (1995)
Patterns of circulating prolactin, LH and FSH during dopamine-agonist induced termination of anestrus in beagle dogs
Biol. Reprod. Suppl., 52, 314
- Onclin, K., Verstegen, J.P. (1996)
Practical use of a combination of a dopamine agonist and a synthetic prostaglandin analogue to terminate unwanted pregnancy in dogs
J. Small. Anim. Pract., 37 (5), 211-216
- Osbaldiston, G.W. (1978)
Bacteriological studies of reproductive disorders of bitches
J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 14, 363-367
- Osmer, R., Rath, W., Adelman-Grill, B.C., Fitikow, C., Kuloczik, M., Szeverenyi, M., Tschesche, H., Kuhn, W. (1992)
Origin of cervical collagenase during parturition
Am. J. Obstet. Gynecol., 166, 1455-1460
- Owiny, J.R., Fitzpatrick, R.J. (1990)
Effect of intravaginal application of prostaglandin E₂ gel on the mechanical properties of the ovine cervix at term
Am. J. Obstet. Gynecol., 163, 657-660
- Peters, W.M. (1986)
Nature of "basal" and "reserve" cells in oviductal and cervical epithelium in man
J. Clin. Pathol., 39 (3), 306-312
- Phemister, R.D., Holst, P.A., Spano, J.S., Hopwood, M.L. (1973)
Time of ovulation in the beagle bitch
Biol. Reprod., 8, 74-82
- Porter, D.G. (1981)
Relaxin and cervical softening: a review
In: Ellwood, D.A., Anderson, A.B.M. (Hrsg.): *The cervix in pregnancy and labour*
Churchill Livingstone, Oxford, 85-97

- Priedkalns, J. (1987)
 Female reproductive system
 In: Dellmann, H.-D., Brown, E.M. (Hrsg.): Textbook of Veterinary Histology,
 3. Aufl.,
 Verlag Lea und Febiger, Philadelphia, 334-335
- Rajabi, M.R., Solomon, S., Poole, A.R. (1991a)
 Biochemical evidence of collagenase-mediated collagenolysis as a mechanism of
 cervical dilatation at parturition in the guinea pig
 Biol. Reprod., 45 (5), 764-772
- Rajabi, M.R., Dodge, G.R., Solomon, S., Poole, A.R. (1991b)
 Immunochemical and immunohistochemical evidence of estrogen-mediated
 collagenolysis as a mechanism of cervical dilatation in the guinea pig at parturition
 Endocrinology, 128 (1), 371-378
- Ramos, J.G., Varayoud, J., Kass, L., Rodriguez, H., Munoz de Toro, M., Montes, G.S.,
 Luque, E.H. (2000)
 Estrogen and progesterone modulation of eosinophilic infiltration of the rat uterine
 cervix
 Steroids, 65 (7), 409-414
- Reibiger, I., Spaniel-Borowski, K. (2000)
 Difference in localization of eosinophils and mast cells in the bovine ovary
 J. Reprod. Fertil., 118, 243-249
- Röber, C. (1914)
 Anatomische und histologische Untersuchungen über die Cervix uteri von Equus
 caballus, Equus asinus und Ovis aries
 Diss. med. vet., Leipzig
- Robertson, S.A., Mau, V.J., Young, I.G., Matthaei, K.I. (2000)
 Uterine eosinophils and reproductive performance in interleukin 5-deficient mice
 J. Reprod. Fertil., 120, 423-432
- Romeis, (1989)
 Mikroskopische Technik
 Bock, P. (Hrsg.), 17., neubearb. Aufl.,
 Verlag Urban & Schwarzenberg, 235-236, 474-475, 495, 518-519
- Roncalli, M., Sideri, M., Gie, P., Servida, E. (1988)
 Immunophenotypic analysis of the transformation zone of human cervix
 Lab. Invest., 58 (2), 141-149
- Rorie, D.K., Newton, M. (1967)
 Histologic and chemical studies of the smooth muscle in the human cervix and uterus
 Am. J. Obstet. Gynecol., 99, 466-469

- Rosenfeld, C.R. (1980)
Responses of reproductive and nonreproductive tissues to 17-beta-estradiol during ovine puerperium
Am. J. Physiol., 239 (5), E333-339
- Roszel, J.F. (1992)
Anatomy of the canine uterine cervix
Compend. Contin. Educ. Pract. Vet., 14 (6), 751-760
- Rüedlinger, H.-P. (1976)
Lagebeziehungen der vegetativen Nerven zur Cervix uteri bei klinisch gesunden und an Pyometra erkrankten Hündinnen
Schw. Arch. Tierheilk., 118, 271-278
- Saha, K., Bhatia, G., Mukherjee, S., Mitra, A.B., Luthra, U.K. (1981)
Fluctuation of immunoglobulin levels in cervical mucus during the various phases of female reproductive life and its alteration in uterine disorders
Indian J. Med. Res., 74, 696-704
- Sato, T., Ito, A., Mori, Y., Yamashita, K., Hayakawa, T., Nagase, H. (1991)
Hormonal regulation of collagenolysis in uterine cervical fibroblasts
Biochem. J., 275, 645-650
- Schaefers-Okkens, A.C. (1988)
Hormonal regulation to the cyclic corpus luteum in the dog
Thesis, Utrecht
- Schmalz, 1911
Die weiblichen Geschlechtsorgane
In: Ellenbergers Handbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere, Bd.2, 233-239
- Schuh, R. (1993)
Histomorphometrische Untersuchungen der Cervix uteri bei Katze, Hund, Schaf, Rind, Pferd
Diss. med. vet., München
- Schummer, A., Vollmerhaus, B. (1987)
Kap.: Harn- und Geschlechtsapparat
In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band II, Eingeweide, 7. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 376-415
- Schwabe, C., Mc Donald, J.K., Steinetz, B.G. (1977)
Primary structure of the B-chain of porcine relaxin
Biochem. Biophys. Res. Commun., 75 (2), 503-510
- Seiferle, E. (1933)
Über Art- und Altersmerkmale der weiblichen Geschlechtsorgane unserer Haussäugetiere Pferd, Rind, Kalb, Ziege, Kaninchen
Z. Anat. Entwicklungsgesch., 101, 1-80

- Sherwood, O.D. (2004)
Relaxin's physiological roles and other diverse actions
Endocr. Rev., 25 (2), 205-234
- Silva, L.D.M., Onclin, K., Verstegen, J.P. (1995)
Cervical opening in relation to progesterone and oestradiol during heat in beagle bitches
J. Reprod. Fertil., 104, 85-90
- Silva, L.D., Onclin, K., Lejeune, B., Verstegen, J.P. (1996)
Comparison of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen
Vet. Rec., 138 (7), 154-157
- Sjoquist, P.O., Bjellin, L., Carter, A.M. (1977)
Blood flow to the genital tract of oestrous and dioestrous guinea-pigs
J. Reprod. Fertil., 51 (1), 83-86
- Smollich, A. (1992)
Geschlechtssystem
In: Smollich, A., Michel, G. (Hrsg.): Mikroskopische Anatomie der Haustiere, 2. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 233-333
- Spanggaard, H., Knudsen, U.B., Uldbjerg, N., Jeziorska, M., Woolley, D.E., Danielsen, C.C. (1997)
Mast cells in cervical ripening - an immunohistochemical and biomechanical study in rats
Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 73 (1), 91-97
- Steinborn, A., von Gall, C., Hildenbrand, R., Stutte, H.J., Kaufmann, M. (1998)
Identification of placental cytokine-producing cells in term and pregnancy labor
Obstet. Gynecol., 91, 329-335
- Steinetz, B.G., Goldsmith, L.T., Harvey, H.J., Lust, G. (1989)
Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: detection of relaxin as a marker of pregnancy
Am. J. Vet. Res., 50 (1), 68-71
- Stygar, D., Wang, H., Vladic, Y.S., Ekman, G., Eriksson, H., Sahlin, L. (2001)
Co-localization of oestrogen receptor beta and leukocyte markers in the human cervix
Mol. Hum. Reprod., 7 (9), 881-886
- Sun, F.F., Crittenden, N.J., Czuk, C.I., Taylor, B.M., Stout, B.K., Johnson, H.G. (1991)
Biochemical and functional differences between eosinophils from animals species and man
J. Leukoc. Biol., 50, 140-150

- Tammer, I., Blendinger, K., Sobiraj, A., Bostedt, H. (1994)
Über den Einsatz der exfoliativen Vaginalzytologie im Rahmen der gynäkologischen Befunderhebung bei der Hündin
Tierarztl. Prax., 22 (3), 199-207
- Tay, S.K., Jenkins, D., Campion, A., Singer, A. (1987a)
Subpopulations of Langerhans' cells in cervical neoplasia
Br. J. Obstet. Gynaecol., 94, 10-15
- Tay, S.K., Jenkins, D., Maddox, P., Singer, A. (1987b)
Lymphocyte phenotypes in cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection
Br. J. Obstet. Gynaecol., 94, 16-21
- Tay, S.K., Jenkins, D., Singer, A. (1987c)
Natural killer cells in cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection
Br. J. Obstet. Gynaecol., 94, 901-906
- Trasch, K., Wehrend, A., Bostedt, H. (2003)
Follow-up examinations of bitches after conservative treatment of pyometra with the antigestagen aglepristone
J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin Med., 50 (7), 375-379
- Tsutsui, T., Kawakami, E., Murao, I., Ogasa, A. (1989)
Transport of spermatozoa in the reproductive tract of the bitch: observations through uterine fistula
Nippon Juigaku Zasshi, 51 (3), 560-565
- Tsutsui, T., Stewart, D.R. (1991)
Determination of the source of relaxin immunoreactivity during pregnancy in the dog
J. Vet. Med. Sci., 53 (6), 1025-1029
- Uldbjerg, N., Ekman, G., Malmström, A. (1983)
Ripening of the humane uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans and collagenolytic activity
Am. J. Obstet. Gynecol., 147, 662-666
- Vaerman, J.P. (1973)
In: Kwapinski, J.B.G., Day, E.D. (Hrsg.): Research in Immunochemistry and Immunobiology, Vol. 3
University Park Press. Baltimore, London & Tokio, 417
- Vaerman, J.P., Férin, J. (1974)
Local immunological response in the vagina, cervix and endometrium
Acta Endocrinol. Suppl. (Copenh), 194, 281-305

- Verstegen, J., Onclin, K., Wouters-Ballman, P. (1996)
Remnant progesterone production by the corpus luteum of the anoestrus ovary and role in anoestrus regulation in bitches
3rd International Symposium on Reproduction of dogs, cats and exotic carnivores, Utrecht, Netherlands, September 12-14, 50
- Verstegen, J., Onclin, K., Silva, L., Concannon, P. (1997)
Termination of obligate anoestrus and induction of fertile ovarian cycles in dogs by administration of purified pig LH
J. Reprod. Fertil., 111, 35-40
- Verstegen, J.P., Silva, L.D.M., Onclin, K. (2001)
Determination of the role of cervical closure in fertility regulation after mating or artificial insemination in Beagle bitches
J. Reprod. Fertil. Suppl., 57, 31-34
- Volkman, D.H., Bertschinger, H.J., Schulman, M.L. (1995)
The effect of prostaglandin E(2) on the cervixes of dioestrus and parturient mares
Reprod. Dom. Anim., 30, 240-244
- Vos, J.H. (1988)
Uterine and cervical carcinomas in five dogs
J. Vet. Med. A, 35, 385-390
- Wallis, R.M., Hillier, K. (1981)
Regulation of collagen dissolution in the human cervix by oestradiol-17 β and progesterone
J. Reprod. Fertil., 62, 55-61
- Walsh, G.M., (2001)
Eosinophil granule proteins and their role in disease
Curr. Opin. Hematol., 8 (1), 28-33
- Watts, J.R., Wright, P.J. (1995)
Investigating uterine disease in the bitch: uterine cannulation for cytology, microbiology and hysteroscopy
J. Small Anim. Pract., 36 (5), 201-206
- Watts, J.R., Wright, P.J., Whithear, K.C. (1996)
Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle
J. Small Anim. Pract., 37 (2), 54-60
- Watts, J.R., Wright, P.J., Lee, C.S., Whithear, K.C. (1997)
New techniques using transcervical uterine cannulation for the diagnosis of uterine disorders in bitches
J. Reprod. Fertil. Suppl., 51, 283-293

- Wehrend, A., Träsch, K., Failing, F., Bostedt, H. (2003a)
Untersuchungen zum regionalen pH-Wert in Vagina, Zervix und Uterus von Kühen im Interöstrus
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 110, 65-68
- Wehrend A., Failing K., Bostedt H. (2003b)
Cervimetry and ultrasonographic observations of the cervix regression in dairy cows during the first 10 days post partum
J. Vet. Med. A, 50 (9), 470-473
- Wehrend, A., Bostedt, H., Leiser, R. (2004a)
Lichtmikroskopische Untersuchungen zur Architektur des bovinen zervikalen Gewebes nach Spontangeburt oder Auszug mit mechanischen Geburtshelfern – eine mögliche Erklärung der Pathogenese zervikaler Involutionsstörungen
Tierärztl. Prax., 32, 75-78
- Wehrend, A., Gümbel, B., Leiser, R., Failing, K., Bostedt, H. (2004b)
Vaginal and cervical dilatation intra partum is associated with eosinophilic infiltration in the cow but not in the sheep
Reprod. Dom. Anim., 39, 442-446
- Wehrend A., Hetzel, U., Huchzermeyer, S., Klein, C., Bostedt, H., Leiser, R. (2004c)
Sirius red is able to selectively stain eosinophil granulocytes in bovine, ovine and equine tissue
Anat. Histol. Embryol., 33 (3), 180-182
- Wehrend, A., Bostedt, H. (2005)
Untersuchungen zur speziesspezifischen Bedeutung der Zervix als Dystokieursache (Hund, Pferd, Schwein, Schaf, Kuh)
Tierärztl. Umsch., 60, 7-12
- Wehrend, A., Huchzermeyer, S. (2005)
Distribution of eosinophils and mast cells in the cervical tissue of non-gravid mares during dioestrus
Reprod. Domest. Anim., 40 (6), 562-563
- Weilenmann, R., Arnold, S., Döbeli, M., Rüsch, P., Zerobin, K. (1993)
Östradiol- und Progesteronkonzentrationen im Plasma von nicht trächtigen Hündinnen während des Sexualzyklus
Schweiz. Arch. Tierheilkd. 135, 51- 57
- Welle, M.M., Audige, L., Belz, J.P. (1997)
The equine endometrial mast cell during the puerperal period: evaluation of mast cell numbers and types in comparison to other inflammatory changes
Vet. Pathol., 34, 23-30
- Wilson, M.S. (1993)
Non-surgical intrauterine artificial insemination in bitches using frozen semen
J. Reprod. Fertil. Suppl., 47, 307-311

- Wilson, M.S. (2001)
Transcervical insemination techniques in the bitch
Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., 31 (2), 291-304
- Wiqvist, I., Norström, A., Wiqvist, N. (1985)
Oxytocin and cervical connective tissue
Acta Physiol. Hung., 65 (3), 323-326
- Wrobel, K.-H. (1971)
Histologische, histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der
Cervix uteri des Rindes
Habilitationsschrift, Beiheft zum Zbl. Vet. Med., 15
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- Wuttke, W. (1997)
Kap. 20: Endokrinologie
In: Schmidt, R.S., Thews, G. (Hrsg.), Physiologie des Menschen, 27. Aufl.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 370-406
- Zarrow, M.X., Yochim, J. (1961)
Dilatation of the uterine cervix of the rat and accompanying changes during the
estrous cycle, pregnancy and following treatment with estradiol, progesterone and
relaxin
Endocrinology, 69, 292-304

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. H. Bostedt und Herrn Prof. Dr. A. Wehrend für die Überlassung des interessanten Themas zur Anfertigung dieser Dissertation.

Im Besonderen möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. A. Wehrend für seine ständige, sorgfältige und zeitnahe Beratung in allen Phasen dieser Arbeit bedanken, die zur Fortsetzung dieser Arbeit und ihrem Abschluss geführt haben.

Ich danke weiterhin den Mitarbeitern der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz für die kooperative Unterstützung bei dem operativen Verfahren zur Gewinnung der Gewebeproben.

Ebenso möchte ich mich an Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. B. Hoffmann und Mitarbeiter wenden, denen die sorgfältige Auswertung der Hormonanalysen zu verdanken ist.

Den Mitarbeitern des Instituts für Veterinär-Anatomie, -Histologie und Embryologie danke ich für ihre Unterstützung bei der Einbettung der Gewebeproben.

Herrn Dr. K. Failing und Frau Sparrenberg aus der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung sei für die geduldige und sorgfältige Unterstützung bei der statistischen Auswertung gedankt, ebenso für ihre freundliche Bereitschaft, bei neu aufkommenden Fragen beratend zur Seite zu stehen.

Im Besonderen bedanke ich mich bei meiner Familie und bei meinen Freunden für ihre stetige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Giessen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D - 3 5 3 9 6 G I E S S E N

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5068-1



9 783835 195068 9